

Entwicklung strukturell neuartiger Typ II FAS-Inhibitoren als
Wirkstoffe gegen multiple Entwicklungsstadien von Apicomplexa
und
Entwicklung potenzieller Bid-Inhibitoren als Wirkstoffe gegen
neuronalen Zelltod

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)

dem
Fachbereich Pharmazie der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
Florian Christoph Schrader
aus München

Marburg/Lahn, 2012

Vom Fachbereich Pharmazie der Philipps-Universität Marburg als Dissertation
angenommen am

20.03.2012

Erstgutachter

Herr Prof. Dr. Martin Schlitzer

Zweitgutachter

Herr Prof. Dr. Gerhard Klebe

Drittgutachter

Herr Prof. Dr. Franz Bracher

Tag der mündlichen Prüfung

24.04.2012

Für meine Eltern

*„Indes sie forschten, röntgten, filmten, funkten, entstand von selbst
die köstlichste Erfindung: der Umweg als die kürzeste Verbindung
zwischen zwei Punkten.“*

(Erich Kästner)

Inhaltsverzeichnis

A.	<i>Entwicklung strukturell neuartiger Typ II FAS-Inhibitoren als Wirkstoffe gegen multiple Entwicklungsstadien von Apicomplexa</i>	- 5 -
A.1.	Einleitung	- 6 -
A.2.	Malaria	- 7 -
A.2.1.	Entwicklungszyklen der Plasmodien	- 8 -
A.2.2.	Malaria-Pathologie	- 10 -
A.2.2.1.	Veränderungen des Erythrozyten	- 10 -
A.2.2.2.	Mechanismen der Pathologie der <i>Plasmodium</i> -Arten	- 11 -
A.2.3.	Aktuell verwendete Wirkstoffe und Therapieempfehlungen	- 14 -
A.2.3.1.	4-Aminochinoline	- 16 -
A.2.3.2.	Arylaminoalkohole	- 17 -
A.2.3.3.	Folsäureantagonisten	- 18 -
A.2.3.4.	Wirkstoffe gegen präerythrozytäre Formen	- 18 -
A.2.3.5.	Antibiotika	- 19 -
A.2.3.6.	Artemisininine	- 22 -
A.2.4.	Zellkultur und <i>in vitro</i> Testverfahren	- 23 -
A.3.	Toxoplasmose	- 25 -
A.3.1.	<i>Toxoplasma gondii</i>	- 25 -
A.3.2.	Veränderungen der Wirtszelle	- 27 -
A.3.3.	Toxoplasmose des Menschen und Wirkstoffe in der Therapie	- 29 -
A.4.	Lipid-Metabolismus in Plasmodien	- 31 -
A.4.1	Fettsäuresynthese	- 35 -
A.4.1.1.	Typ I FAS	- 35 -
A.4.1.2.	Typ II FAS	- 38 -
A.4.1.3.	Enoyl-ACP-Reduktase	- 42 -
A.4.1.4.	Fettsäure-Elongation	- 44 -
A.5.	Typ II FAS-Inhibitoren als Wirkstoffe gegen Apicomplexa	- 48 -
A.5.1.	Typ II FAS als <i>drug target</i> in <i>Plasmodium</i>	- 48 -
A.5.2.	Typ II FAS als <i>drug target</i> in <i>Toxoplasma</i>	- 50 -
A.5.3.	Inhibitoren der Typ II FAS in Protozoen	- 52 -
A.5.3.1.	Triclosan und Analoga	- 53 -
A.5.3.2.	Weitere ENR-Inhibitoren	- 57 -
A.5.3.3.	Inhibitoren anderer FAS-Enzyme	- 58 -
A.6.	Aufgabenstellung	- 62 -
A.6.1.	Entwicklung strukturell neuartiger FAS Inhibitoren	- 62 -
A.6.2.	Synthese und biologische Evaluierung von 3,5-disubstituierten Thiazolidin-2,4-dion-derivaten	- 64 -
A.7.	Präparative Arbeiten und Ergebnisse der biologischen Testung	- 65 -
A.7.1.	Entwicklung strukturell neuartiger ENR-Inhibitoren	- 65 -
A.7.1.1.	Virtual screening	- 65 -
A.7.1.2.	Synthese der Verbindungen aus dem virtual screening	- 69 -
A.7.1.3.	Biologische Evaluierung der Verbindungen aus dem virtual screening	- 73 -
A.7.1.4.	Kombinatorische virtual library	- 76 -
A.7.1.5.	Strukturelle Variation des Salicylsäureamidderivats 2-Hydroxy-N-(2-(<i>m</i> -tolyl)oxy)ethyl)benzamid (60)	- 77 -

A.7.1.6.	Strukturelle Variation des 2-Chlorbenzoesäurederivats 2-Chlor- <i>N</i> -(2-(<i>m</i> -tolylloxy)ethyl)benzamid (109)	- 82 -
A.7.1.7.	Synthese und biologische Evaluierung von 2-Naphthoxyethylbenzamidderivaten	- 90 -
A.7.1.8.	Bestimmung der Aktivität der Aryloxyalkylbenzoesäureamidderivate gegen <i>T. gondii</i>	- 93 -
A.7.1.9.	Bestimmung der Aktivität von 2-Naphthylloxyethylderivaten gegen präerythrozytärer Entwicklungsstadien von <i>P. berghei</i>	- 95 -
A.7.2.	Synthese und biologische Evaluierung von <i>N</i> -Phenyl-5-benzylidensubstituierten Thiazolidin-2,4-dionderivaten und Analoga	- 99 -
A.7.2.1.	Variation der <i>N</i> -Phenyl- und der Katecholpartialstruktur	- 100 -
A.7.2.2.	Synthese und Evaluierung von Amidderivaten der Kaffeesäure	- 108 -
B.	Entwicklung potenzieller Bid-Inhibitoren als Wirkstoffe gegen neuronalen Zelltod	- 111 -
B.1.	Einleitung	- 112 -
B.2.	Neuronaler Zelltod	- 114 -
B.2.1.	Definition und Prävalenz neurodegenerativer Erkrankungen	- 114 -
B.2.2.	Neurotransmitter	- 115 -
B.2.3.	Exzitotoxizität	- 116 -
B.3.	Apoptose	- 118 -
B.3.1.	Signalkaskaden der Apoptose	- 119 -
B.3.2.	Bid und die Familie der Bcl-2-Proteine	- 121 -
B.4.	Entwicklung von Wirkstoffen gegen neuronalen Zelltod	- 124 -
B.4.1.	Grenzen von Testsystemen bei der Entwicklung neuroprotektiver Wirkstoffe	- 126 -
B.4.2.	Messung der Glutamattoxizität an HT-22 Zellen	- 126 -
B.4.3.	Antiapoptotische Substanzen in der Entwicklung	- 129 -
B.4.4.	Bid-Inhibitoren	- 130 -
B.5.	Aufgabenstellung	- 132 -
B.6.	Präparative Arbeiten und Ergebnisse der biologischen Testung	- 134 -
C.	Zusammenfassung	- 157 -
C.1.	Entwicklung strukturell neuartiger Typ II FAS-Inhibitoren als Wirkstoffe gegen multiple Entwicklungsstadien von Apicomplexa	- 157 -
C.2.	Entwicklung potenzieller Bid-Inhibitoren als Wirkstoffe gegen neuronalen Zelltod	- 165 -
D.	Experimenteller Teil	- 170 -
D.1.	Allgemeine Arbeitsvorschriften zur Biologischen Testung	- 171 -
D.1.1.	Zellkultur von HFF-Zellen	- 171 -
D.1.2.	Wirkstoff-Proliferations-Assay gegen <i>T. gondii</i> Tachyzoiten	- 171 -
D.1.3.	Klonierung, Sequenzierung, Exprimierung und Reinigung der <i>TgENR</i>	- 171 -
D.1.4.	<i>TgENR</i> -Enzyminhibitions-Assay	- 172 -
D.1.5.	Zellkultur von <i>P. falciparum</i>	- 172 -
D.1.5.1.	Eigenständige Arbeiten am Universitätsklinikum Heidelberg	- 172 -
D.1.5.2.	Arbeiten von S. BAUMEISTER an der Universität Marburg	- 172 -
D.1.6.	Wirkstoff-Proliferations-Assays gegen <i>P. falciparum</i>	- 173 -
D.1.6.1.	SYBR Green-Fluoreszenz-Assay	- 173 -
D.1.6.2.	LDH-Assay	- 173 -
D.1.7.	Biologische Testung der Zytotoxizität der Substanzen	- 174 -

D.1.8.	Zellkultur von HT-22 Zellen.....	- 174 -
D.1.9.	MTT-Assay mit HT-22 Zellen.....	- 174 -
D.2.	Computergestützte Methoden	- 176 -
D.2.1.	Kombinatorische <i>virtual library</i>	- 176 -
D.2.2.	<i>Docking</i>	- 176 -
D.3.	Methoden in der Synthese.....	- 177 -
D.3.1.	Allgemeine Angaben zu Geräten und Arbeitstechniken	- 177 -
D.3.2.	Allgemeine Arbeitsvorschriften zur Synthese	- 179 -
D.4.	Verbindungsdaten	- 183 -
D.4.1.	3-substituierte Thiazolidin-2,4-dionderivate.....	- 183 -
D.4.2.	3,5-disubstituierte Thiazolidin-2,4-dionderivate.....	- 192 -
D.4.3.	Aryloxyacetonitrilderivate	- 205 -
D.4.4.	Aryloxyalkylaminderivate	- 208 -
D.4.5.	<i>N</i> -(2-Aryloxyalkyl)benzamidderivate	- 211 -
D.4.6.	<i>N</i> -(4-phenoxyphenyl)-substituierte Carbonsäureamidderivate	- 238 -
D.4.7.	Weitere <i>N</i> -Phenylcarbonsäureamidderivate	- 262 -
D.4.8.	Weitere Verbindungen	- 266 -
E.	Anhang.....	- 286 -
E.1.	Abkürzungsverzeichnis	- 287 -
E.2.	Literaturverzeichnis	- 291 -
E.3.	Erklärung	- 305 -
E.4.	Danksagung.....	- 306 -
E.5.	Lebenslauf	- 307 -

**A. Entwicklung strukturell neuartiger Typ II
FAS-Inhibitoren als Wirkstoffe gegen mul-
tiple Entwicklungsstadien von Apicomplexa**

A.1. Einleitung

Wie viele andere Tropenkrankheiten wurde die Malaria lange von Forschung und Wirkstoffentwicklung vernachlässigt. Die Krankheit ist zum überwiegenden Teil in Gebieten der sogenannten „dritten Welt“ endemisch und die Wirtschaftskraft der betroffenen Bevölkerung ist gering. Für pharmazeutische Unternehmen ist dieser Markt daher, angesichts hoher Kosten in der Entwicklung von Wirkstoffen, nicht attraktiv.^[1] Öffentlich finanzierte Organisationen, private Initiativen oder *Public Private Partnerships* ermöglichen dennoch durch gezielte Förderung wichtige Forschungs- und Entwicklungsprojekte.^[2,3]

Dringender Bedarf besteht an neuartigen Wirkstoffen, denn viele bisher eingesetzte Medikamente sind schlecht verträglich und auf Grund von Resistenzen oft wirkungslos. Zudem wirkt die Mehrheit dieser Wirkstoffe erst nach einer bestehenden Infektion und löst somit nicht das Problem der Krankheitsverbreitung.^[4]

Durch die Entschlüsselung des Genoms der wichtigsten Malariaerreger^[5,6] wurde eine Vielzahl neuer molekularer Angriffspunkte (*targets*) für die Entwicklung neuer Wirkstoffe identifiziert. Voraussetzung des strukturbasierten oder rationalen Wirkstoffdesigns ist die Kenntnis der dreidimensionalen Struktur des *targets*. Um molekulare Wirkmechanismen potenzieller neuer Wirkstoffe mit einem entsprechenden *target* zu finden, zu beschreiben und schließlich zu optimieren, bedient man sich Technologien wie Gentechnik, Röntgen-Kristallographie und computergestütztem Design.^[1]

Viele Wirkstoffe aus einer derartigen Entwicklung wirken zwar gegen isolierte molekulare Zielstrukturen des Malariaparasiten, die Wirkung gegen kultivierte Erreger ist jedoch nicht ausreichend. Gerade unter potenziellen antiparasitären Wirkstoffen, die in der Regel eine Vielzahl natürlicher Barrieren überwinden müssen, um überhaupt an ihren Wirkort zu gelangen, eignen sich nur die wenigsten kleinen Moleküle für eine Therapie.^[7] Werden Wirkstoffkandidaten hingegen vorab gegen intrazellulär lebende Parasiten getestet (wie in der vorliegenden Arbeit), verringert man deutlich das Risiko eines nach aufwändiger Entwicklungsarbeit später möglicherweise unwirksamen Wirkstoffs.^[8]

A.2. Malaria

Malaria ist eine tropentypische, parasitäre Infektionskrankheit, die unbehandelt zum Tod führen kann.^[9] Während der gesamten Entwicklungsgeschichte der Menschen war Malaria eine der größten Bedrohungen. Erbliche erythrozytäre Defekte wie Sichelzellanämie oder α -Thalassämie können vor schwerer Erkrankung schützen^[10] und wurden in ehemaligen und aktuellen Endemiegebieten evolutionär selektiert, obwohl sie bei homozygoten Trägern zu einer deutlichen Verminderung der Lebenserwartung führen (Abb. 1).^[11] Angesichts eines derart hohen Risikos, an Malaria zu sterben, überwog in der Evolution also die Verbreitung einer unter Umständen tödlichen Mutation.^[12]

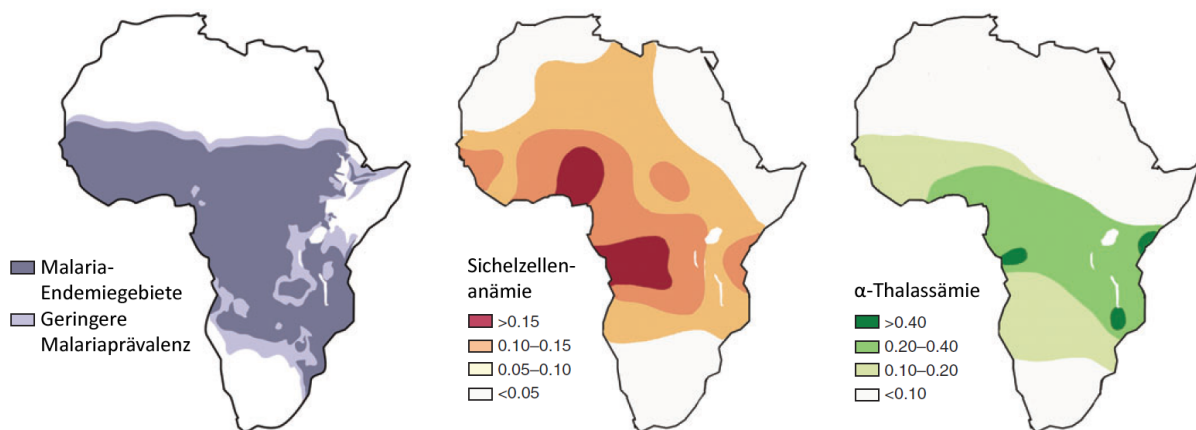


Abbildung 1: Verbreitung der Malaria und erblicher erythrozytärer Defekte. Bild modifiziert übernommen von WELLEMS und FAIRHURST.^[13] © 2005 Nature Publishing Group.

Heute ist Malaria eine Krankheit der ärmeren, sogenannten Entwicklungsländer. Sie ist der Hauptgrund, dass dort jedes vierte Kind stirbt, bevor es fünf Jahre alt wird.^[14] Dennoch ist Malaria ein globales Problem: Fast die Hälfte der Weltbevölkerung in über 100 Ländern lebt in Endemiegebieten, weite Teile Afrikas, Indiens, Brasiliens, Afghanistans, Thailands, Indonesiens und Chinas sind betroffen (Abb. 2).^[9] Die 2009 in Deutschland gemeldeten 523 Malariaerkrankungen wurden dagegen ausschließlich durch Ferntourismus importiert.^[15] In diesem Jahr wurden die weltweiten Todesfälle, die auf eine Malariainfektion zurückgehen, mit 781.000 angegeben, wobei sich Schätzungen bezüglich Prävalenz und Todesfälle schwierig gestalten. Eine endgültige Diagnose kann in vielen Fällen nicht erfolgen und in manchen Gebieten werden, trotz Bemühungen der WHO, üblicherweise keine Daten erhoben.^[9]

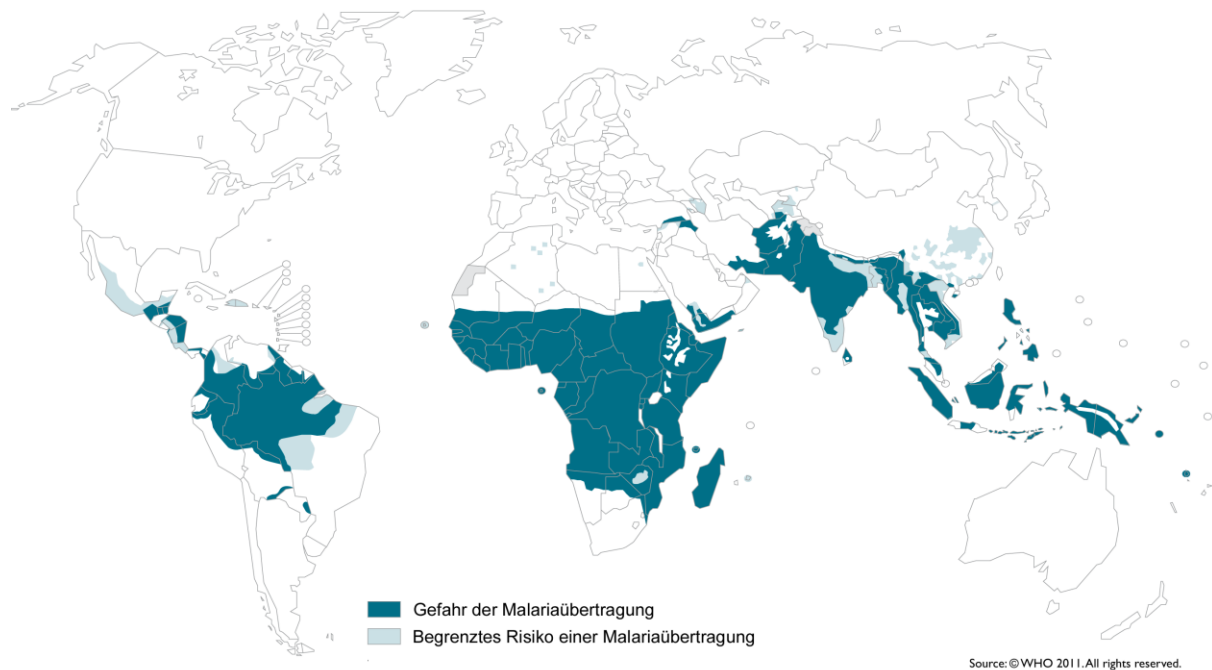


Abbildung 2: Verbreitung der Malaria und Empfehlungen zur Chemoprophylaxe Stand 2010. Bild: Modifiziert nach World Health Organization.^[16]

Als Erreger der Malaria wurden 1880 von LAVERAN erstmals Blutparasiten beschrieben (Nobelpreis 1907^[17]), die Gattung wurde bald darauf mit *Plasmodium* benannt. Die typisch pigmentierten, teils motilen Körper von heterogener Form wurden erstmals im Blut erkrankter algerischer Soldaten gefunden (Abb. 3). Die Entwicklung der Methylenblaufärbung 1883 und der weitgehend der heutigen Giemsa-Färbung entsprechenden Azur-Eosin-Methylenblaufärbung 1891 ermöglichte eine genauere, subzelluläre Differenzierung verschiedener Arten und deren unterschiedlichen Morphologie in den einzelnen Entwicklungsstadien.^[18]

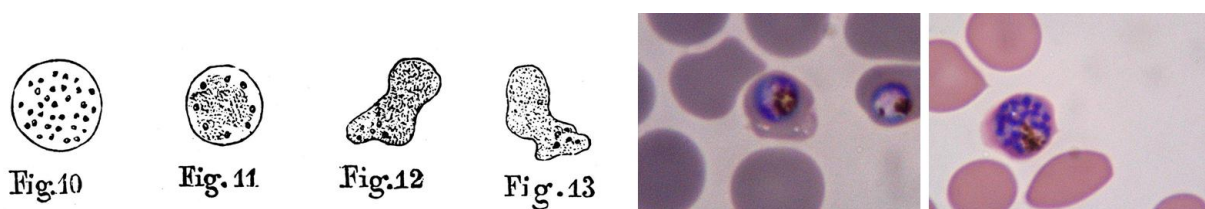


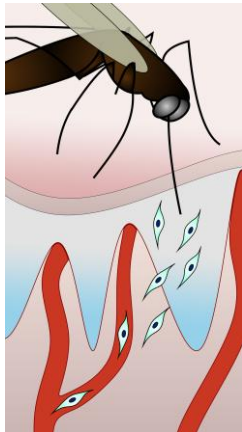
Abbildung 3: Links: Von LAVERAN beobachtete ungefärbte Formen von *Plasmodium*.^[19] Bild: Schutzfrist abgelaufen. Rechts: Mit Giemsa gefärbte asexuelle, späte intraerythrozytäre Formen. Bild: Eigenes Werk, alle Urheberrechte Universitätsklinikum Heidelberg.

A.2.1. Entwicklungszyklen der Plasmodien

Die Übertragung der Malaria von Mensch zu Mensch erfolgt durch einen Vektor, die *Anopheles*-Mücke. Nimmt sie Blut eines Malariakranken auf, kann sie sich mit dem Erreger infizieren. Diesen nimmt das Insekt zunächst in Form verschiedener Entwicklungsstadien auf. Die folgende Verdauung überleben jedoch ausschließlich die geschlechtlichen Gametozyten, das

einziges für die Mücke infektiöses Stadium. Die nach sexueller Vermehrung in der Mücke entstehenden Ookineten fügen dem Insekt den größten Schaden zu, denn sie penetrieren etwa einen Tag nach Infektion die Wand seines GIT, um dort als Oozysten zu replizieren. Tausende Sporozoiten entstehen auf diese Weise und wandern schließlich in die Speicheldrüse der Mücke.^[20]

Abbildung 4: Von Anopheles injizierte Sporozoiten migrieren aus avaskulären Hautbereichen in Blutgefäße.



Bei der nächsten nun folgenden Blutmahlzeit kann die Mücke diese Sporozoiten mit dem Speichel injizieren und so ihren Wirt infizieren. Wurde in früheren *in vitro* Versuchen die Anzahl der pro Biss injizierten Sporozoiten auf deutlich unter 25 geschätzt,^[21] zeigen neuere Versuche an Mäusen, dass durchschnittlich über 100, vereinzelt bis über 1.000 Sporozoiten übertragen werden.^[22] Für 5-15 min^[23] bleiben diese zum größten Teil in avaskulären Bereichen des Hautgewebes und erreichen danach zunächst ein Blutgefäß (Abb. 4) und im Anschluss die Leber. Dort ange-

kommen migrieren Sporozoiten in einem für ihre Infektiosität essenziellen Prozess zunächst durch mehrere Hepatozyten und verbleiben schließlich in einer dieser Zellen, um sie zu infizieren^[24,25] (Abb. 5). Bereits zwei min nach dem Eintritt in die Blutbahn lassen sich Sporozoiten spezifisch im Zytoplasma von Hepatozyten nachweisen.^[26]

Im Hepatozyten entwickelt und vermehrt sich ein Sporozoit zu einem aus tausenden einzelligen Merozoiten bestehenden Schizont. Einige Erreger der Arten *ovale* und *vivax* verbleiben in dieser Form als Hypnozoiten in einem Monate oder auch Jahre persistierenden Ruhestadium und können schließlich zu einem erneuten Ausbruch der Krankheit führen. Ist der Schizont gereift, löst sich die nun fast vollständig vom Parasit ausgefüllte Wirtszelle aus

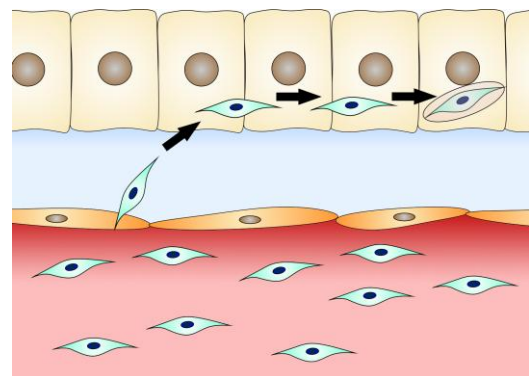


Abbildung 5: Sporozoiten verlassen die Blutbahn und migrieren durch Hepatozyten.

ihrem Verbund, und vesikelartige Merosomen schnüren sich durch das Endothel in das Lumen ab (Abb. 6). Gleichzeitig werden Signale an phagozytierende Zellen unterdrückt, sodass die Merosomen ihren Inhalt, bestehend aus einer Vielzahl infektiöser Merozoiten, unerkannt vom Immunsystem im Blut des Wirts verteilen können.^[27] *In vitro* können Merosomen bereits 48 h nach dem Sporozoitenbefall nachgewiesen werden.^[27] Die klinische Inkubationszeit nach Infektion ist deutlich länger, jedoch interindividuell und abhängig von der *Plasmodium*-Art stark variabel. Vergleicht man z. B. bei einer größeren Population von Patienten, die nach der

Rückkehr aus einem Endemiegebiet nach Europa erkranken, den Zeitpunkt ihrer Einreise mit dem ersten Auftreten der Symptome, findet man durchschnittlich für *P. falciparum* fünf Tage, für *P. ovale* 25 Tage, für *P. malariae* 37 Tage und für *P. vivax*, 62 Tage.

In der Blutbahn des Wirts angelangt, infizieren die motilen Merozoiten Erythrozyten. Dabei kann eine Zelle von mehr als einem Parasiten befallen werden. In einer für die *Plasmodium*-Art charakteristischen Zeitspanne repliziert der Merozoit nun auch in dieser Zelle, hierbei kommt es zu einer deutlichen Veränderung seiner Morphologie: Unmittelbar nach Infektion des Erythrozyten erscheint der Parasit unter dem Lichtmikroskop zunächst in der Gestalt eines feinen Rings. Im sich anschließenden trophozoiten Stadium

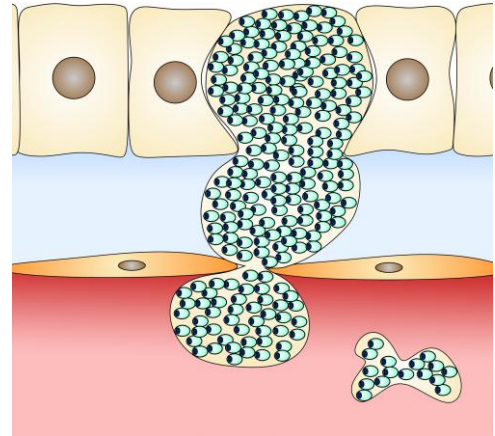


Abbildung 6: Merosomen schnüren sich durch das Endothel in die Blutbahn ab.

ändert er sein metabolisches Verhalten und nimmt Teile des erythrozytären Zytoplasmas auf, um dieses zu verdauen.^[28,29] In der Folge wächst der Parasit und wirkt zunächst wie ein massiver Halbkreis oder schüsselförmig^[30] (junger Trophozoit) und anschließend rund-amöboid (reifer Trophozoit, Abb. 3). In dieser Form erkennt man im Lichtmikroskop das Hämozoin als typisches „Malariapigment“ (gelb-braun bei Giemsa-Färbung, Abb. 3), ein Stoffwechselprodukt des Parasiten, das bei der Entgiftung toxischen Ferriprotoporphyrins IX (FPPIX) entsteht. Aus dem reifen Trophozoit entsteht in der Folge ein Schizont, der nach mehrfacher Teilung der Zellorganellen und DNS schließlich segmentiert (Abb. 3). Nach Lyse des Erythrozyten werden weitere motile, infektiöse Merozoiten in das Blut freigesetzt und der Zyklus mit wiederkehrendem Befall neuer Wirtszellen wiederholt sich.

A.2.2. Malaria-Pathologie

A.2.2.1. Veränderungen des Erythrozyten

Plasmodien, die sich im Erythrozyten vermehren, stellen hohe metabolische Anforderungen an ihre Wirtszelle. Um unter anderem eine Versorgung mit benötigten Nährstoffen zu ermöglichen und den infizierten Erythrozyten vor dem Immunsystem des Wirts zu schützen, verändert der Malariaparasit im Laufe seiner Entwicklung seine Wirtszelle strukturell und funktionell. Eine der deutlichsten Veränderungen hierbei ist die Ausbildung eines Systems aus röhren- und vesikelartigen Membranen mit integralen Transportproteinen (tubovesikuläres Netzwerk, TVN) im Zytosol. Hierdurch gelangen aus dem Serum aufgenommene Nährstoffe des

Wirts zum Parasiten.^[31] Dafür ist das TVN essenziell, denn nicht infizierte Erythrozyten sind zum intrazellulären vesikulären Transport nicht fähig.^[32]

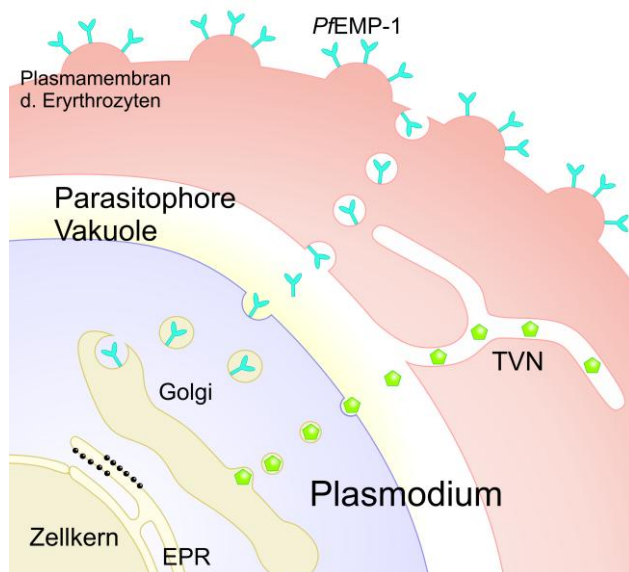


Abbildung 7: Strukturelle Veränderungen der Wirtszelle durch *P. falciparum*. Golgi: Golgi-Apparat TVN: Tubovesikuläres Netzwerk. ER: Endoplasmatisches Retikulum.

Eine weitere strukturelle Veränderung erfolgt an der Plasmamembran infizierter Erythrozyten: In diese lagern Plasmodien verschiedene eigene Proteine ein, die eine vielseitige Funktion für den Parasiten und Auswirkung auf die Pathologie der Malariaerkrankung haben.

Zum einen interagieren diese Proteine mit bestehenden Transportern^[33] in der erythrozytären Plasmamembran oder bilden durch diese neue Transportwege (sog. *new permeability pathways*, NPPs, Abb. 7).^[34,35] Die Permeabilität der Erythro-

zytenmembran für Anionen und verschiedene andere kleine, physiologische Moleküle ändert sich hierdurch deutlich.^[34] Diese Permeabilitätsänderung tritt etwa 6 h nach Infektion eines Erythrozyten auf und markiert den Beginn des trophozoiten Entwicklungsstadiums des Malariaparasiten.^[34] Über die NPPs kann sich der wachsende Parasit mit Nährstoffen aus dem Serum des Wirts versorgen. Zusätzlich werden unerwünschte Metabolite, wie der weit größte Teil der bei der Verdauung des Hämoglobins entstehenden Aminosäuren, aus der Zelle entfernt.^[36] Ohne Ausbildung der NPPs käme es sonst wegen der steigenden Osmolarität zur Lyse des Erythrozyten vor der Reifung des Schizonten.^[37]

Zum anderen schützt ihn die Einlagerung von Proteinen in die Plasmamembran des Erythrozyten vor dem Immunsystem des Wirts, wobei sich hierdurch gleichzeitig die Virulenz^a des Parasiten erhöht.^[38,39]

A.2.2.2. Mechanismen der Pathologie der Plasmodium-Arten

Nach einer zunächst symptomlosen Inkubationsphase in der Leber markiert der intraerythrozytäre Befall den Beginn der klinischen Pathologie. Hohes Fieber ist ein derart prominentes Symptom, dass es in manchen endemischen Gegenden simultan für den Krankheitsbegriff gebraucht wird. Zusätzlich leiden Erkrankte unter Übelkeit und Gliederschmerzen, wodurch oft zunächst Influenza, die tatsächliche Erkrankung aber erst spät diagnostiziert wird.^[40] Da

^a Die Pathologie wird im Folgenden beschrieben.

sich die Malariaparasiten (abgesehen von *P. falciparum*) *in vivo* synchron entwickeln, bedingt die Zeitspanne für einen vollendeten intraerythrozytären Zyklus eine charakteristisch rhythmische Fiebersymptomatik. Die *Plasmodium*-Arten unterscheiden sich in der erythrozytären Replikationszeit: Typischerweise entwickeln sich *P. vivax* und *P. ovale* intraerythrozytär innerhalb 48 h. In den entsprechenden Intervallen tritt hohes Fieber auf, was den Begriff „Malaria tertiana“ geprägt hat. *P. malariae* benötigt 72 h und verursacht die Malaria quartana, *P. falciparum* zeigt einen eher unregelmäßigen Rhythmus und ruft die Malaria tropica hervor.

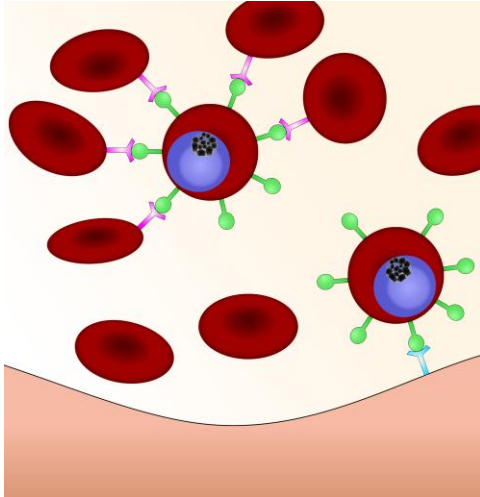


Abbildung 8: Befallene Erythrozyten binden an endotheliale Rezeptoren und andere Erythrozyten.

P. falciparum ist in den Tropen endemisch, hier überwiegend in Afrika, und stellt dort den mit Abstand häufigsten Malariaerreger dar. Infektionen gehen mit einer hohen Parasitämie und ausgeprägter Pathologie einher, unbehandelt können sie zum Tod führen. Der Ursprung der außerordentlichen Virulenz dieses Erregers liegt in der beschriebenen Einlagerung von verschiedenen Proteinen in die Plasmamembran der Wirtszelle.^[33] PfEMP1 und andere dieser Proteine binden als sehr unspezifische Antigene an unterschiedliche Rezeptoren, u. a. auch in der Endothelmembran und der Plazenta, wo der Erythrozyt somit haften bleibt (Abb. 8). Dem Blut auf diese Weise entzogene, sequestrierte Zellen gelangen nicht in die Milz, wo sie sonst wie alte, deformierte und aggregierte Erythrozyten entfernt würden.^[41] Die hohe genetische Variabilität des Antigens macht es der humoralen Immunabwehr unmöglich, spezifische Antikörper zu bilden und stellt einen weiteren Überlebensvorteil für den Parasiten dar. Zusätzlich befällt *P. falciparum*, im Gegensatz zu anderen Arten von *Plasmodium*, Erythrozyten unabhängig vom Alter der Wirtszelle. Die Sequestrierung, zusammen mit einem unselektiven Befall der gesamten Erythrozyten des Wirts, sind die Hauptgründe für die Komplikationen einer schweren Malariaerkrankung:^[42] Indem infizierte wie auch uninfizierte Erythrozyten agglutinieren und an das Endothel von Kapillaren adhärieren, kommt es zum mechanischen Verschluss kleiner Blutgefäße. Eine sichtbare Folge sind Vergrößerungen von Leber und Milz durch Stauungen und Hämorrhagie, bei der komplizierten Malaria kann ein Verschluss von Blutgefäßen des Gehirns (zerebrale Malaria) und anderer wichtiger Organe auftreten.

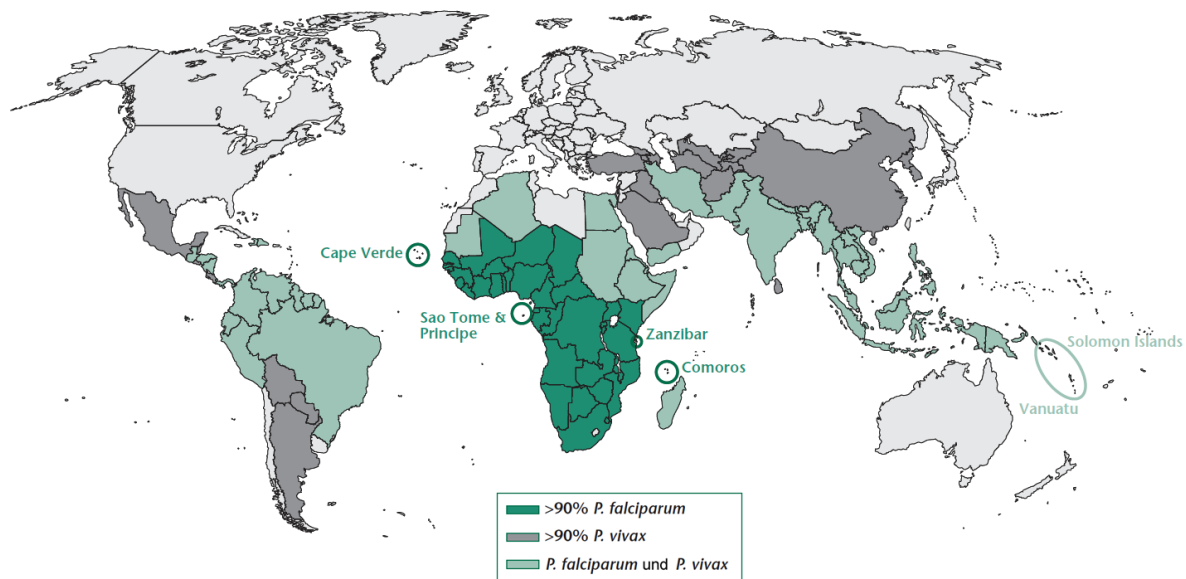


Abbildung 9: Verbreitung von *P. falciparum* und *P. vivax* in verschiedenen Ländern, Stand 2009. Bild: R. FEACHEM und THE MALARIA ELIMINATION GROUP.^[43] Alle Rechte: The Global Health Group.

Derartige komplizierte Verlaufsformen einer Infektion mit *P. falciparum* führen unbehandelt oft zum Tod des Patienten. Metabolische Azidose spielt eine zentrale, klinische Rolle und kann zur tödlichen Minderperfusion des Gehirns oder anderer lebenswichtiger Organe führen: Ähnlich der Pathologie des septischen Schocks bewirkt erhöhte vaskuläre Permeabilität und eine pathologische Vasodilatation eine Hypovolämie bei gleichzeitiger Thrombenbildung.^[44,45] Bewusstseinsbeeinträchtigung bzw. Koma und Krämpfe (zerebrale Malaria)^[46] sowie Atemnot sind sich u. a. daraus ergebende Symptome, wobei laut WHO bei einer *falciparum* Infektion bereits eines dieser Symptome eine komplizierte Malaria definiert.^[47]

P. vivax kann, im Gegensatz zu *P. falciparum*, den Sporogonie-Zyklus auch bei niedrigeren Temperaturen vollenden und ist daher in der gemäßigten Zone endemisch.^[48] Die meisten Patienten infizieren sich in Süd- und Ostasien und im Raum des westlichen Pazifik. In Afrika kommt der Parasit vergleichsweise selten vor, da hier große Populationen ein für den Invasionsprozess des Parasiten wichtiges Antigen nicht auf den Erythrozyten ausbilden (Abb. 9). Zusätzlich infiziert *P. vivax* bevorzugt Retikulozyten (junge Erythrozyten) die insgesamt aber nur etwa 1 % darstellen. Beides macht *P. vivax* selektiver in der Infektion und führt zu geringer Parasitämie, entsprechend wurde *vivax* Malaria bis vor wenigen Jahren als „gutartig“ und typischerweise nicht tödlich beschrieben. Nach neueren Studien ist die Letalität ähnlich der einer Infektion mit *P. falciparum*, Schätzungen zufolge sind aber mit 2,85 Milliarden mehr Menschen dem Risiko einer Infektion durch *P. vivax* ausgesetzt.^[49,50] Ein weiterer Unterschied zu *P. falciparum* ist die Bildung von Hypnozoiten in der Leber.

Auch bei *P. ovale*, einer im Vergleich zu den beiden erstgenannten Arten aber deutlich selteneren und daher weniger erforschten Art, kommen diese Ruheformen vor. *P. ovale* lässt sich in zwei genetische Formen unterteilen, deren Vertreter sich untereinander nicht vermehren und jeweils als eigene Art diskutiert werden.^[51]

Zu den fünf Malariaerregern, die den Menschen in der freien Wildbahn befallen können, zählen schließlich noch *P. malariae* und *P. knowlesi*. Auf Grund morphologischer Ähnlichkeiten im erythrozytären Stadium werden sie im Befund oft verwechselt,^[52] Infektionen durch jeweils beide Arten sind im Vergleich zu *P. falciparum* und *P. vivax* selten. *P. knowlesi* gehört nicht zu den Malariaerregern des Menschen. Reservoir- bzw. Hauptwirt sind Affen und es existiert kein stabiler Übertragungsweg Mücke-Mensch-Mücke-Mensch.^[53] Die Krankheit stellt daher eine echte Zoonose da. Die verschiedenen intraerythrozytären Stadien dieser Art entwickeln sich asynchron, entsprechend gibt es keine rhythmische Fiebersymptomatik. Auffällig ist bei *P. knowlesi* die von allen Malariaparasiten kürzeste erythrozytäre Replikationszeit von 24 h.^[54]

P. berghei und *P. yoelii* befallen Nagetiere wie Mäuse, in den wesentlichen Aspekten unterscheiden sich die beiden Arten jedoch nicht von den Malariaerregern des Menschen. Morphologie und Infektionszyklus sind sowohl im Zwischenwirt als auch in *Anopheles* entsprechend und die krankheitsbedingte Symptomatik ähnlich. Mit *P. berghei* und *P. yoelii* können Labormausstämme infiziert werden, eine als Vektor fungierende *Anopheles*-Art lässt sich unter Laborbedingungen halten, und auch die beiden *Plasmodium*-Arten lassen sich ohne Risiko für den Menschen kultivieren.^[55] *P. berghei* und *P. yoelii* werden daher u. a. in Tiermodellen einer Malariainfektion des Menschen verwendet. Sporozoiten von *P. yoelii* zeigen in der Maus eine außergewöhnlich hohe Infektiosität und werden daher oft zur Erforschung präerythrozytärer Entwicklungsstadien verwendet.^[56]

A.2.3. Aktuell verwendete Wirkstoffe und Therapieempfehlungen

Da eine wirksame Schutzimpfung bislang nicht zur Verfügung steht, bestehen wesentliche Schutzmaßnahmen vor Malaria zum einen in der Vermeidung von Insektenstichen (Expositionsprophylaxe) und zum anderen in der Einnahme von Malaria-Medikamenten (medikamentöse Prophylaxe).^[57] Nicht alle Präparate lassen sich bei Schwangeren und Kindern anwenden, ansonsten bestimmen Ziel, Zeitpunkt und Dauer einer geplanten Reise die Medikamentenwahl.

Zur Therapie der Malariaerkrankung stehen verschiedene Mono- und Kombinationspräparate zur Verfügung, bei deren Anwendung die Art des Erregers, die Resistenzlage in einem Gebiet und das Krankheitsbild des Patienten berücksichtigt werden. Für Betroffene in Endemiegebieten sind Resistenz, Preis und Unterversorgung die Hauptprobleme, in einigen Gegenden sind bereits alle gängigen und dabei bezahlbaren Medikamente wirkungslos. Die Erfahrung hat gezeigt, dass Wirkstoffe gegen Malaria sehr schnell ihre Effektivität verlieren, wenn sie zur Monotherapie verwendet werden. Kombiniert man aber zwei Wirkstoffe mit unterschiedlichem Wirkprinzip, entwickeln sich Resistenzen langsamer als gegen die einzelnen Wirkstoffe.

Die unter diesen Gesichtspunkten zurzeit effektivsten Medikamente sind Kombinationspräparate von einem Artemisininderivat und einem oder mehreren Wirkstoffen einer anderen Wirkstoffklasse^b (*Artemisinin Combination Therapy*, ACT). Behandlungskosten der ACTs übertreffen jedoch die der bisher meistverwendeten Medikamente Sulfadoxin-Pyrimethamin und Chloroquin (1) um ein Vielfaches, zusätzlich ist die Verfügbarkeit, insbesondere abseits staatlicher Behandlungseinrichtungen nicht ausreichend.^[58] ACTs nehmen daher insbesondere seit 2007 eine zentrale Rolle im *Roll Back Malaria Partnership* (RBM) Programm der WHO ein.^[59,60] Diese internationale Partnerschaft von privaten und staatlichen Organisationen umfasst unter anderem WHO, UNICEF, UN Entwicklungshilfe und Weltbank-Gruppe sowie pharmazeutische Unternehmen. Durch gezielte Subvention der ACTs und Aufklärung wird versucht, den genannten Problemen in Malaria-Endemiegebieten zu begegnen. Ziel ist es, Resistenzen möglichst zu vermeiden oder wenigstens, soweit es möglich ist, zu verzögern. Monotherapien, ineffektive und gefälschte Medikamente sollen vom Markt verdrängt werden, um schließlich auch in unterversorgten Gegenden allen Erkrankten die effektivste Therapie verfügbar zu machen.^[61,62]

^b Relevante Wirkstoffklassen werden im Folgenden beschrieben.

A.2.3.1. 4-Aminochinoline

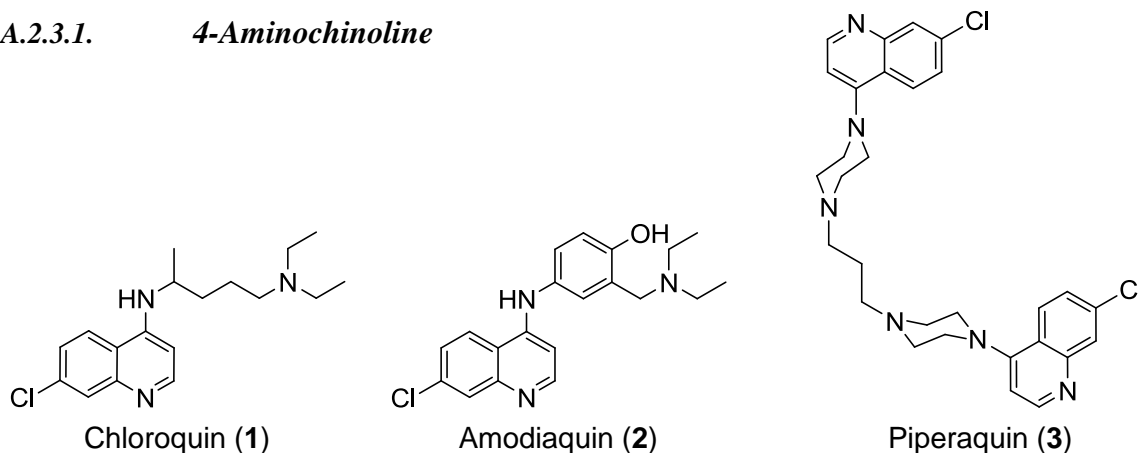


Abbildung 10: Chemische Struktur ausgewählter 4-Aminochinoline.

Das zur Gruppe der 4-Aminochinoline (Abb. 10) gehörende Chloroquin (1) (früher Resochin) war das meistgenutzte Malariamedikament der Nachkriegszeit und stellte 1955 bis 1970 die wirkungsvollste Therapieform des *Global Eradication of Malaria* Programms der WHO dar. Gegen Ende der Kampagne war Malaria in den meisten Ländern gemäßigter Klimazonen ausgerottet. Resistenzen der Mücken gegen DDT und schließlich das Scheitern der Kampagne führten in den Tropen jedoch schnell zur Ausbreitung der zunächst nur vereinzelt auftretenden, aber stark selektierten chloroquinresistenten Erreger. Heute ist Chloroquin (1) in fast allen Endemiegebieten praktisch unbrauchbar gegen *P. falciparum*,^[63] im asiatischen Raum ist teilweise auch *P. vivax* resistent.^[64] Laut WHO sollte Chloroquin (1) nicht als Monopräparat verwendet werden und kommt in Kombination mit Proguanil (9) (Paludrine®) nur in wenigen Gebieten für die Chemoprophylaxe in Frage.^[65] Die deutsche Gesellschaft für Tropenmedizin (DTG) empfiehlt dieses Kombinationspräparat auch hier ausdrücklich nicht, Chloroquin (1) eigne sich ausschließlich zur Therapie einer gesicherten Infektion durch *P. vivax*, wenn Resistenzen ausgeschlossen werden können.^[66] Die Mannich-Base Amodiaquin (2) wirkt auch ausreichend gegen einige chloroquinresistente Stämme. Im asiatischen Raum ist der Wirkstoff jedoch oft ineffektiv, zusätzlich wird sein therapeutischer Wert durch schwere Nebenwirkungen begrenzt. Die WHO empfiehlt die Verwendung daher nur in Kombination mit Artesunat als ACT zur Therapie.^[67] Auch gegen das Bischinolinderivat Piperaquin (3) findet man im asiatischen Raum Resistenzen, in Kombinationspräparaten ist der Wirkstoff dort jedoch sogar effektiver als alternative Präparate.^[68] Auch hier gilt die Empfehlung nur für das ACT in Kombination mit Dihydroartemisinin (16).

A.2.3.2. Arylaminoalkohole

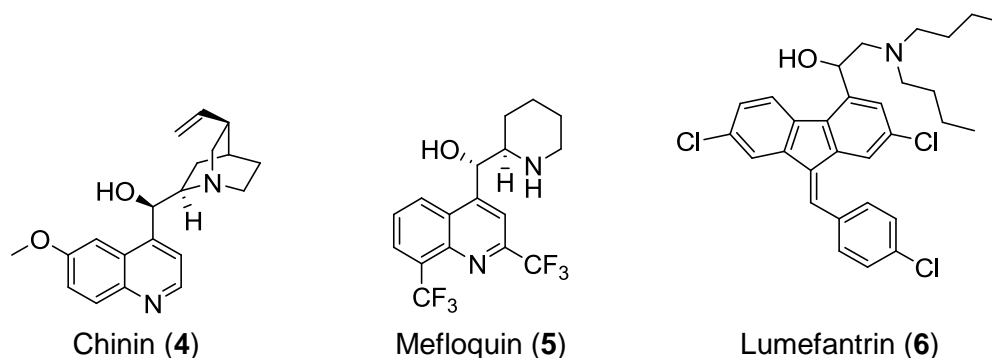


Abbildung 11: Chemische Struktur ausgewählter Arylaminoalkohole.

Chinin (**4**) wird aus der Rinde kultivierter Chinarindenbäume gewonnen, deren fiebersenkende Wirkung lange vor der Entwicklung von Wirkstoffen genutzt wurde.^[69] Für die Therapie der komplizierten Malaria ist das Arylaminoalkoholderivat (Abb. 11) auch heute bisweilen die einzig praktikable Alternative zu Artemisininderivaten. Laut WHO kann es hier zunächst parenteral eingesetzt werden oder in einer anschließenden Therapie in Kombination mit einem der Antibiotika Doxycyclin (**12**) oder Clindamycin (**13**).^[67] Die Chininanaloga Mefloquin (**5**) und Lumefantrin (**6**) wirken gegen die meisten chloroquinresistenten Erreger.

Nach der Einnahme von Mefloquin (**5**) können Übelkeit^[70] und, in seltenen Fällen (etwa bei einem von 10.000 prophylaktisch behandelten Reisenden), neuropsychiatrische Störungen auftreten.^[65,67] Der Wirkstoff ist sehr effektiv gegen *P. falciparum* in Afrika und Südamerika und wird dort von der WHO zur Prophylaxe empfohlen.^[65] Da in Südostasien gebietsweise ein Versagen einer Therapie von Mefloquin (**5**) bei mehr als jedem zweiten Malaria-Patienten beobachtet wird,^[71,72] eignet sich hier der Wirkstoff auch nicht zur Chemoprophylaxe. Insbesondere im Grenzgebiet zwischen Thailand, Myanmar und Kambodscha ist die Behandlungssituation auf Grund multiresistenter Malariaerreger kritisch. Waren hier ACTs aus Mefloquin (**5**) und Artesunat (**18**) in 1994 zumindest in hoher Dosierung noch effektiv,^[73] gibt es seit 2007 Berichte über Resistenzen auch gegen die wichtigste verfügbare Wirkstoffklasse.^[74]

Lumefantrin (**6**) wird auf Grund seines ausgeprägt lipophilen Charakters nach oraler Aufnahme schlecht absorbiert und zeigt, abhängig von der gleichzeitig aufgenommenen Nahrung, eine schwankende Bioverfügbarkeit. Der Wirkstoff wird ausschließlich in ACTs mit Artemether (**17**) angewendet (Coartem®). Dieses Medikament war die erste von der FDA zugelassene artemisininbasierte Fixkombination.^[75]

A.2.3.3. Folsäureantagonisten

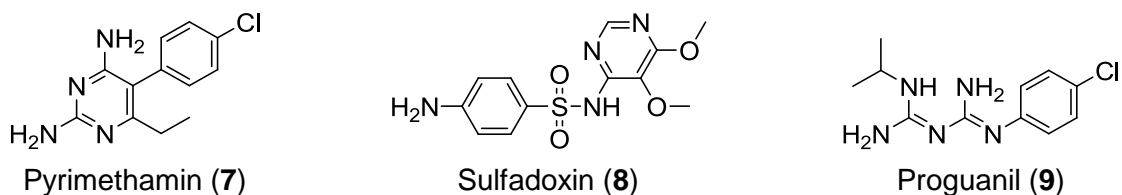


Abbildung 12: Chemische Strukturen von antiplasmodial wirksamen Folsäureantagonisten.

Pyrimethamin (7) sowie Sulfadoxin (8) hemmen Enzyme im Folsäurestoffwechsel der Malaria Parasiten (Abb. 12). Das Kombinationspräparat aus beiden Wirkstoffen (Fansidar®) war neben Chloroquin (1) zur Behandlung der Malaria am weitesten verbreitet. Die Verwendung wird jedoch auf Grund massiver, sich schnell verbreitender Resistenzen, besonders im afrikanischen Raum, nicht mehr empfohlen. In Malawi beispielsweise wurde seit 1993 statt Chloroquin (1), das zu dieser Zeit in der Behandlung eine Effektivität von unter 50 % zeigte, Sulfadoxin-Pyrimethamin zur Therapie verwendet. 2006 bereits war die genannte Wirkstoffkombination praktisch unbrauchbar: 71 von 87 erkrankten Kindern konnten durch diese Behandlung nicht geheilt werden, was einer Effektivität von weniger als 25 % entspricht.^[76] Dennoch ist die Kombination wie auch Chloroquin (1) in ärmeren und unterversorgten Gegenden, insbesondere abseits staatlicher Behandlungseinrichtungen, noch verbreitet, wird aber zunehmend durch subventionierte ACTs verdrängt.^[60,61,62] Von der WHO werden die Wirkstoffe ausschließlich in der Kombination Artesunat+Sulfadoxin/Pyrimethamin als ACT zur Therapie empfohlen.^[67] Cycloguanil (nicht gezeigt), ein Metabolit von Proguanil (9), hemmt ebenfalls ein Enzym im Folsäurestoffwechsel von *Plasmodium*. In der Kombination mit Chloroquin (1) (Paludrine®) ist Proguanil (9), laut DTG, weniger effektiv und schlechter verträglich als vergleichbare Präparate und wird ausdrücklich nicht empfohlen.^[66]

A.2.3.4. Wirkstoffe gegen präerythrozytäre Formen

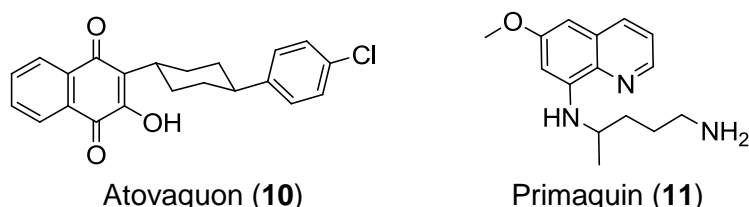


Abbildung 13: Chemische Strukturen von Wirkstoffen gegen Plasmodien in präerythrozytären Stadien

Proguanil (9) wird von der DTG in Kombination mit dem synergistisch wirkenden Atovaquon (10) (Malarone®) als erste Wahl zur Malariaphylaxe empfohlen (Abb. 13).^[66] Besonders wertvoll ist diese Medikamentenkombination, da sie, wie ansonsten nur Primaquin (11), ge-

gen Plasmodien im Leberstadium wirkt. Atovaquon/Proguanil eignet sich zur kausalen Prophylaxe, da eine Infektion der Erythrozyten, die mit der eigentlichen Pathologie der Erkrankung und auch der Infektiosität einhergeht, verhindert wird. Zusätzlich zur beschriebenen Hemmung der Folsäuresynthese durch Cycloguanil beruht die gute Wirksamkeit der Wirkstoffkombination auf einem synergistischen Effekt von nicht-metabolisiertem Proguanil (9) und Atovaquon (10) auf den Elektronentransport in der Atmungskette von *Plasmodium spp.*

Eine herausragende Bedeutung in der Therapie und Prophylaxe von Malaria hat das 8-Aminochinolinderivat Primaquin (11). Wie Atovaquon/Proguanil wirkt es gegen Plasmodien im Leberstadium, zusätzlich aber als einziger zugelassener Wirkstoff auch gegen hepatische Dauerformen (Hypnozoiten) von *P. vivax* und *P. ovale*. Entsprechend eignet sich der Wirkstoff laut DTG auch zur Prophylaxe, ist hierfür in Deutschland aber nicht zugelassen. Wirksam ist Primaquin (11) auch gegen die für eine Übertragung der Krankheit entscheidenden Gametozyten. Um diese bei der Therapie einer unkomplizierten *falciparum*-Malaria zu eliminieren, empfiehlt die WHO zusätzlich zu einem ACT die Einmalgabe von Primaquin (11).^[67] Vorher muss aber ein Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6PD)-Mangel beim Patienten ausgeschlossen werden, weil bei Betroffenen das Risiko einer schweren Hämolyse besteht. Diese unerwünschte Nebenwirkung ist in Afrika besonders relevant, da die sonst seltene Mutation der Gene des Zuckerstoffwechsels dort relativ häufig auftritt.^[77] Somit wird der Einsatz von Primaquin (11) gerade in diesen kritischen Gebieten beschränkt. Bei gesicherter Infektion mit *P. vivax* sollte, je nach Resistenzlage in der betroffenen Gegend, mit Chloroquin (1) behandelt werden, in Gegenden mit bekannter Resistenz werden ACTs empfohlen. Um Hypnozoiten-bedingte Rückfälle zu vermeiden, muss zusätzlich eine 14-tägige Therapie mit Primaquin (11) erfolgen, auch hier nach Abklärung eines G6PD-Mangels.^[67]

A.2.3.5. Antibiotika

Malariaparasiten und andere Apicomplexa wie *Toxoplasma* enthalten außer nuklearer und mitochondrialer DNS ein drittes, zirkuläres Genom mit hoher Homologie zu der plastidären DNS aus Rotalgen.^[78] Tatsächlich befindet sich dieses prokaryotische Genom in einer Plastid-ähnlichen Organelle,^[79] die der Parasit wahrscheinlich durch sekundäre Endosymbiose erworben hat.^[80] Dieser Apikoplast ist für das Überleben der Plasmodien essenziell^[81] und stellt auf Grund seines prokaryotischen Ursprungs eine Zielstruktur für Antibiotika dar.^[82] Ursprünglich galten vier Stoffwechselwege im Apikoplasten als potenzielle Wirkstoff-*targets*: Typ II Fettsäuresynthese (FAS II), der 1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphat (DOXP) Stoffwechsel zur Synthese von Isoprenoidpräkursoren, Häm-Biosynthese und Synthese von Eisen-Schwefel-*cluster*.^[83] Die an diesen Stoffwechselwegen beteiligten Proteine sind zwar überwiegend nuk-

leär kodiert, werden aber nach ihrer Expression an ihren „Wirkungsort“, den Apikoplasten, importiert. Die Gene des Apikoplasten selbst kodieren nur für rudimentäre, dennoch aber essenzielle Stoffwechselfunktionen (*housekeeping genes*), unter anderem für die Untereinheiten von Ribosomen und den Import nukleär kodierter Proteine.^[84] Hemmstoffe der Transkription und Translation, wie es die meisten Antibiotika sind, wirken spezifisch auf die Expression dieser plastidären Gene^[85] und können auf diese Weise indirekt alle mit dem Apikoplasten assoziierten Stoffwechselwege beeinflussen.

Nach neueren Untersuchungen lassen sich im Blutstadium Plasmodien, nach Behandlung mit verschiedenen Antibiotika, durch Gabe von Isopentenylpyrophosphat, einem Isoprenoidpräkursor, retten. Sogar Plasmodien, die schließlich ihr Apikoplast-Genom vollständig verloren haben, können auf diese Weise überleben.^[86] Sollten sich diese Ergebnisse bestätigen, stellt die Biosynthese von Isoprenoidpräkursoren die einzige essenzielle Funktion und somit, abgesehen von der Genexpression, auch das einzige Wirkstoff-*target* des Apikoplasten im Blutstadium von *Plasmodium* dar.

Um das Stroma des Apikoplasten zu erreichen, muss ein Wirkstoff aus der Blutbahn jedoch mindestens sieben Biomembranen überwinden: Die Plasmamembran eines infizierten Erythrozyten, die Membran der parasitophoren Vakuole, die Plasmamembran des Parasiten und schließlich vier Membranen der plastidären Organelle. Ein entsprechender Verteilungskoeffizient „Oktanol/Wasser“ scheint Voraussetzung für potenzielle Wirkstoffe zu sein, um überhaupt zu ihrem *target* zu gelangen. Antibiotika wie Doxycyclin (**12**) und Fosmidomycin (**14**) sind jedoch außerordentlich hydrophil ($\log P$ ^[281] von <0), was eine Membranpassage per Diffusion sehr unwahrscheinlich macht. Derartige Moleküle erreichen den Apikoplasten wahrscheinlich über Transporter oder transmembranäre Kanäle bereits beschriebener *NPPs* (siehe A.2.2.1.).^[83,87]

Nach einer Behandlung mit Antibiotika stirbt die überwiegende Mehrheit der Plasmodien erst im auf die Behandlung folgenden asexuellen Zyklus, wenn der erythrozytäre Schizont DNS und Zellorganellen, einschließlich des Apikoplasten repliziert. Diese folgende Generation zeigt einen defekten oder fehlenden Apikoplast und ist nicht lebensfähig. Infolgedessen ist der unmittelbare hemmende Effekt auf Plasmodien zunächst nur moderat, vervielfacht sich aber bei gleicher Wirkstoffkonzentration nach 48 Stunden (*delayed death effect*).^[85] Am Patienten setzt die Wirkung entsprechend nur langsam ein, Minderung der Parasitämie zeigt sich erst ab dem vierten Behandlungstag und eine dreitägige Behandlung ist entsprechend nicht effektiv.^[88] Antiplasmodiale Wirkung zeigen Tetrazykline, Makrolide, Chinolone, Rifampicin

(nicht gezeigt), Lincosamide und Fosmidomycin (**14**), Resistenzen sind bisher nicht bekannt (Abb. 14). Im *P. berghei* Maus-Modell konnte gezeigt werden, dass Azithromycin (nicht gezeigt), Clindamycin (**13**) und Doxycyclin (**12**) die Entwicklung des Apikoplasten auch im präerythrozytären Leberstadium hemmen.^[81] Insgesamt betrachtet eignen sich Antibiotika, allein formuliert, nicht zur Behandlung der akuten Malaria, wohl aber zur Chemoprophylaxe.

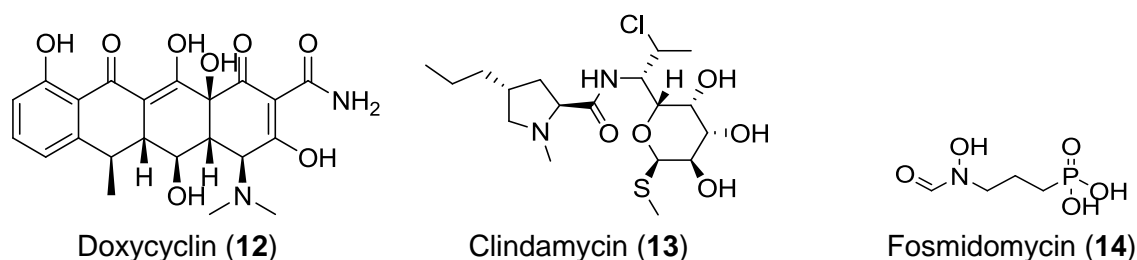


Abbildung 14: Chemische Strukturen ausgewählter Antibiotika.

Tetrazykline stammen ursprünglich aus *Streptomyces*-Arten, werden aber größtenteils vollsynthetisch gewonnen. Sie gehören zu den ersten Klassen von Antibiotika, die zur Behandlung der Malaria verwendet wurden.^[89] Aktuell ist Doxycyclin (**12**) das einzige in der Malariatherapie verwendete Derivat und hier gleichzeitig das meistverwendete Antibiotikum.^[90] Die US Streitkräfte verwenden diesen Wirkstoff als Mittel der ersten Wahl, um einer Malariaerkrankung vorzubeugen, nachdem Mefloquin (**5**) im asiatischen Raum an Effektivität verloren hat und zusätzlich unerwünschte neuropsychiatrische Nebenwirkungen zeigt.^[91] Laut DTG eignet sich Doxycyclin (**12**) zur Malariaphylaxe, ist hierfür in Deutschland aber nicht zugelassen.^[66] Gemäß WHO Empfehlung ist das Tetrazyklin zudem in Kombination mit Chinin (**4**) eine Option zur weiterführenden Therapie einer komplizierten Malariaerkrankung.^[67] Auch Clindamycin (**13**) erhöht, kombiniert angewendet, die Effektivität von Chinin (**4**)^[92] und ist wie Doxycyclin (**12**) in dieser Kombination, gemäß WHO Empfehlung, eine Option zur weiterführenden Therapie der komplizierten Malaria.^[67] Clindamycin (**13**) wird halbsynthetisch aus *Streptomyces*-Arten gewonnen und hemmt in Bakterien die Proteinsynthese, indem es an Ribosomen bindet. Das ebenfalls ursprünglich aus *Streptomyces*-Arten isolierte Fosmidomycin (**14**) hemmt die Mevalonat-unabhängige Synthese von Isoprenoidpräkursoren. Dieser Stoffwechselweg ist für das Wachstum von Plasmodien im Erythrozyten essenziell.^[86] Entsprechend wirkt das Antibiotikum *in vitro* gegen multiresistente Isolate von *P. falciparum* und kann an Malaria erkrankte Mäuse heilen. Chemisch synthetisierte Derivate zeigen teilweise eine deutliche Wirkungssteigerung.^[93] Weder Fosmidomycin (**14**) noch seine synthetisierten Analoga zeigen einen *delayed death effect*, sondern wirken unmittelbar hemmend auf das Wachstum von Plasmodien. Obwohl gut verträglich und daher auch in hoher Dosierung

verwendbar, kann Fosmidomycin (**14**) Malariapatienten jedoch nicht sicher und dauerhaft heilen.^[94] In Kombination mit dem synergistisch wirkenden^[95] Clindamycin (**13**) sind weitere klinische Studien geplant.^[96] Auch die Kombination Fosmidomycin/Piperaquin wird aktuell entwickelt.

A.2.3.6. *Artemisinin*

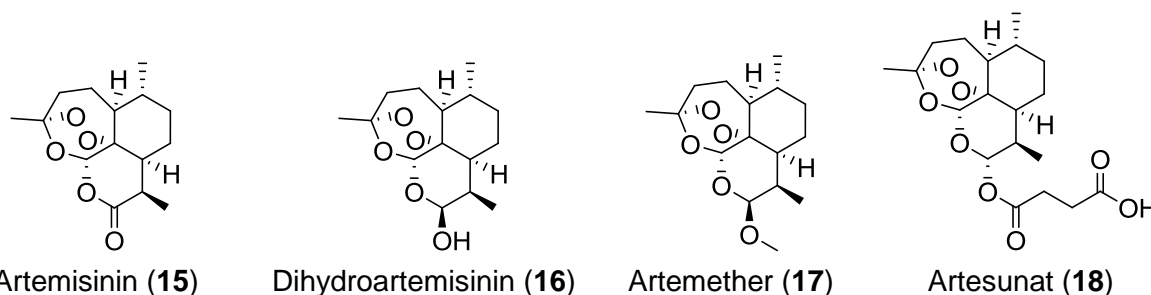


Abbildung 15: Chemische Strukturen von Artemisinin und seiner halbsynthetischen Derivate

Nach dem missglückten internationalen Versuch, den Malariaerreger auszurotten, zeigten sich bei der schnell wiedererstarkten Krankheit in zunehmenden Maße Resistenzen gegen die bisher wirksamsten Medikamente Chloroquin (**1**) und Sulfadoxin/Pyrimethamin. In China wurde daraufhin im Rahmen eines der zu dieser Zeit zahlreichen nationalen „Antimalaria-Projekte“, aus dem einjährigen Beifuß (*Artemisia annua*) der Wirkstoff Artemisinin (**15**) isoliert und als die wirkbestimmende Substanz identifiziert.^[97]

Da Artemisinin (**15**) sehr schlecht bioverfügbar ist und schnell eliminiert wird (Eliminations-Halbwertszeit = 2-3 h^[98]), wurden zur Optimierung der pharmakokinetischen Parameter halbsynthetische Derivate entwickelt (Abb. 15). Dihydroartemisinin (**16**), Artemether (**17**) und Artesunat (**18**) sind die zurzeit wichtigsten und effektivsten Malariatherapeutika. Sie werden kombiniert mit einem oder mehreren Wirkstoffen einer anderen Wirkstoffklasse (ACT) zur Therapie der Malaria und parenteral appliziert zur Therapie der komplizierten Malaria verwendet. Behandlungsoptionen der komplizierten Malaria sind gemäß Therapieempfehlung der WHO parenteral verabreichtes Artesunat (**18**) oder Chinin (**4**). Falls eine parenterale Applikation nicht möglich ist, wird Artesunat (**18**) als Zäpfchen empfohlen. Im Anschluss an die parenterale Therapie soll ein ACT verwendet werden.^[67]

Auch zur Therapie der unkomplizierten *falciparum*-Malaria sowie für die chloroquinresistente *vivax*-Malaria werden ACTs empfohlen.^[67] Laut WHO eignen sich fünf ACTs zur Verwendung: Artemether+Lumefantrin (Riamet®), Artesunat+Amodiaquin, Artesunat+Mefloquin, Artesunat+Sulfadoxin-Pyrimethamin und Dihydroartemisinin+Piperaquin. Die Wahl des

ACTs sollte nach Abwägung seiner Effektivität in dem jeweiligen Gebiet erfolgen. Dihydroartemisinin+Piperaquin befindet sich im Zulassungsverfahren der EMEA.^[99]

Artemisinine bilden also die Grundlage der derzeit wirksamsten Therapieoptionen, entsprechend wäre eine Resistenzentwicklung fatal. Die WHO warnt deshalb vor der Verwendung von artemisininbasierten Monotherapeutika.^[67] Vereinzelte Berichte aus Kambodscha und der Grenzregion zu Thailand über sinkende Effektivität der ACT-Therapie deuten auf beginnende Resistenzen auch gegen diese Wirkstoffklasse.^[100,101] *In vitro* induzierte Resistenz gegen Artemisinin (**15**) betrifft jedoch nie gleichzeitig die synthetischen Derivate,^[102] was bei Auftreten von vereinzelter Resistenzen also möglicherweise nicht die gesamte Wirkstoffklasse unbrauchbar machen würde.

A.2.4. Zellkultur und *in vitro* Testverfahren

Um wirksame Therapieoptionen gegen Malaria zu entwickeln, ist es unerlässlich, die Mechanismen der Interaktion zwischen Parasit und Wirt zu verstehen, Vermehrung und Infektiosität zu charakterisieren und unter Manipulation qualitativ sowie quantitativ zu analysieren. Diese Versuche in Tieren durchzuführen ist für immunologische, pharmakokinetische und toxikologische Fragestellungen unerlässlich.^[103,104,105] Derartige Experimente liefern wertvolle Daten für spätere klinische Studien und können neuartige Infektionsmechanismen^[27] sowie die Effektivität neuer Therapien beweisen.^[93] Tierversuche sind aber nicht immer zweckmäßig, möglicherweise vom Aufwand nicht umsetzbar und können ethische Fragen aufwerfen.^[106] TRAGER und JENSEN^[107] zeigten 1976, dass Plasmodien kontinuierlich in humanen Erythrozyten und künstlichem Medium kultiviert werden können. Die Parasiten vollziehen weiterhin den asexuellen Entwicklungszyklus, entwickeln sich aber asynchron zueinander.^[107] Schon 1912 gab es Versuche zu *ex vivo* Kulturen, die Parasiten ließen sich aber nur für wenige Zyklen kultivieren.^[108] Nach dem neuen Verfahren gelingt die Vermehrung jedoch kontinuierlich, was insbesondere für die Entwicklung von Wirkstoffen, wie im Rahmen der vorliegenden Arbeit, einen unschätzbaren Wert darstellt.^[109]

Auf diese Weise erhaltene Parasiten können unter Ausnutzung ihres in den einzelnen Entwicklungsstadien unterschiedlichen Metabolismus auf das gleiche Entwicklungsstadium synchronisiert werden. Hierbei macht man sich die schon beschriebenen parasitär induzierten *NPPs* infizierter Erythrozyten zu Nutze (siehe A.2.2.1.): Die Plasmamembran von Erythrozyten, die von Plasmodien ab dem trophozoiten Stadium befallen sind, unterscheidet sich von der nicht infizierter Erythrozyten und erst kürzlich infizierter Zellen: Inkubiert man eine asyn-

chrone Population Plasmodien mit dem Zuckeralkohol Sorbitol, nehmen ihn nur die von trophozoiten und späteren Parasiten befallene Erythrozyten auf. Versetzt man diese Zellen nach kurzer Zeit mit dem ursprünglichen Kulturmedium, kommt es zur Lyse aller infizierten Zellen, mit Ausnahme des frühen, postinfektiven Ringstadiums.^[110]

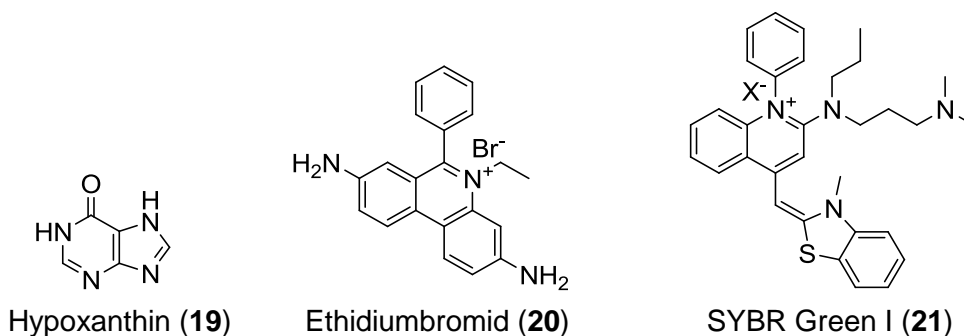


Abbildung 16: In Proliferations-Assays verwendete Reagenzien.

Um potenzielle Wirkstoffe hinsichtlich ihrer antiplasmodialen Wirkung zu bewerten, wird in einem Wirkstoff-Proliferations-Assay ein Teil der synchronisierten Parasiten dem zu testenden Wirkstoff ausgesetzt. Die hemmende Wirkung dieser Substanz auf das Wachstum von Plasmodien, also im Endeffekt die Anzahl der Parasiten, kann, je nach Assaytyp, auf unterschiedliche Weise dargestellt werden (Abb. 16). Hypoxanthin (19), beispielsweise, ist für Plasmodien essenziell für die Synthese der Purine in der DNS^[111] und ist daher immer Bestandteil des Kulturmediums. Stattdessen kann auch radioaktives, Tritium-markiertes Hypoxanthin als Substrat verwendet werden, das dann von den Parasiten aufgenommen wird. Unter sorgfältig kontrollierten Kulturbedingungen ist die Inkorporation des Radioisotops [³H]Hypoxanthin proportional zur Parasitenzahl,^[112] daher lässt sich von der Radioaktivität der Erythrozyten auf die Parasitenzahl rückschließen ([³H]Hypoxanthin-Inkorporations-Assay). Eine weitere Möglichkeit besteht darin, die DNS von Parasiten nach einer bestimmten Wachstumszeit mit einem Farbstoff anzufärben und den Gehalt des DNS-Farbstoff-Komplexes dann photometrisch zu messen. Hierfür werden Ethidiumbromid (20) und SYBR Green I (21) verwendet. Die Reduktion der Parasitenzahl im Vergleich zu Positiv- und Negativprobe lässt sich mathematisch mit Konstanten beschreiben. Diese Konstante quantifiziert die Wirksamkeit der Testsubstanz *in vitro* und dient dem Vergleich mit anderen, z. B. bereits etablierten Wirkstoffen. Eine bezüglich eines Erregers wirkstoffspezifische Konstante ist die IC₅₀: Sie beschreibt die Konzentration eines Wirkstoffes, unter der ein bestimmter Erreger nur 50 % des Wachstums unbehandelter Erreger zeigt (Für eine detaillierte Beschreibung von Zellkultur, Synchronisation und Wirkstoff-Assays siehe D.1.5.).

A.3. Toxoplasmose

Toxoplasmose ist eine Infektionskrankheit, die von dem Protozoen *Toxoplasma gondii* verursacht wird. Sie stellt insgesamt eine der häufigsten parasitären Erkrankungen des Menschen dar und ist auch in Industrieländern weit verbreitet. In Deutschland lassen sich bei durchschnittlich 50 % der Bevölkerung Antikörper gegen den Erreger nachweisen,^[113] eine Erkrankung gesunder Erwachsener verläuft aber in der Regel symptomlos.

A.3.1. *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma gondii wurde das erste Mal 1908 von NICOLLE und MANCEAUXIN^[114] in Nagetieren nachgewiesen. Der Erreger gehört, wie *Plasmodium* zu den Apicomplexa und zeigt mit dem Malariaerreger viele Gemeinsamkeiten: Unter anderem besitzen beide Organismen einen Apikoplast, sind obligat intrazellulär und zeigen komplexe Entwicklungszyklen in verschiedenen Wirten. Anders als *Plasmodium spp.* kann *T. gondii* jeden warmblütigen Organismus befallen. Eine besondere Rolle kommt aber den *Felidae* (Katzenartigen), wie der Hauskatze zu, sowie kleinen Herbivoren, die von ihnen gefressen werden.

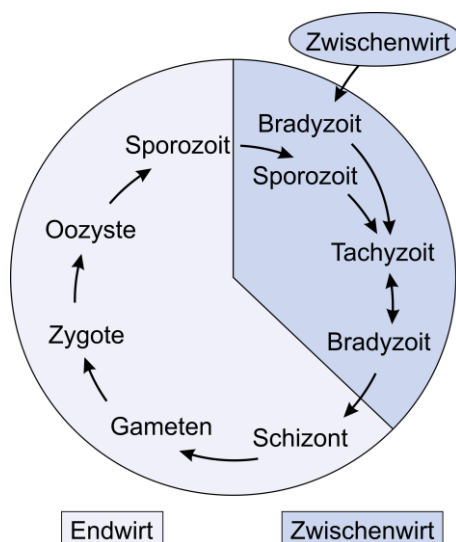


Abbildung 17: Infektionskreislauf von *T. gondii*. Vereinfacht, nach PLATTNER et al.^[115]

Tiere (den Menschen eingeschlossen) finden sich Zysten, die *Toxoplasma* in Form von vielen Bradyzoiten enthalten. Diese Entwicklungsstadien vermehren sich nur langsam und sind vergleichsweise mäßig motil. Durch die Bildung der

Während *Plasmodium* im Mensch sexuelle Formen bildet, die sich dann in der Mücke vermehren, erfolgt der gesamte geschlechtliche Zyklus von *T. gondii* in den *Felidae* (Abb. 17). Die Infektion der *Felidae* ist essenziell, da nur hier die sexuelle Vermehrung stattfinden kann und sie somit den Endwirt darstellen. Zwischenwirte sind potenziell alle warmblütigen Tiere inklusive des Menschen^c. Im Gegensatz zu den *Felidae* scheiden sie nach Erkrankung keine infektiösen Formen aus, sondern tragen *T. gondii* als Dauerstadien im Gewebe: Vorwiegend in Muskeln und im Hirn latent infizierter

^c In der Literatur wird der Mensch bezüglich *Toxoplasma gondii* sowohl als Zwischenwirt als auch als Fehlwirt bezeichnet.^[116,117] Potenziell ist der Mensch zwar ein Zwischenwirt, da der Erreger in ihm infektiöse Zysten bildet, praktisch stellt er aber einen Fehlwirt dar, weil es heute in der Regel keine Fressfeinde mehr gibt, die sich mit den Zysten infizieren können.

Zysten schützen sie sich vor dem Immunsystem und bleiben in dieser Form über Jahre infektiös.

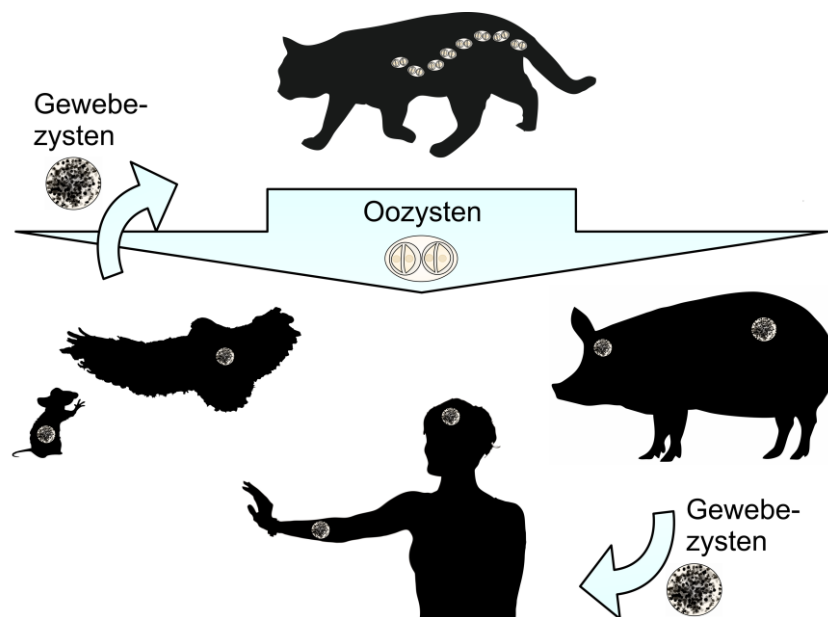


Abbildung 18: Übertragung der Toxoplasmose, schematisiert, vereinfacht.

Katzen können den Erreger durch den Verzehr von latent infizierten Kleintieren, wie Vögeln oder Mäusen, in Form dieser Zysten aufnehmen. Während der Passage durch den Magen bleiben die Zysten intakt und werden erst im Darm aufgelöst, wodurch die Bradyzoiten freigesetzt werden.^[118] Nach der Invasion in Epithelzellen des Darms teilt sich der Parasit und es entstehen sowohl ungeschlechtliche Tachyzoiten, als auch (anders als in allen anderen infizierten Tieren) geschlechtliche Formen. Das Produkt der sexuellen Vermehrung sind Millionen von Oozysten, die anschließend von der akut infizierten Katze für etwa drei Wochen mit dem Kot ausgeschieden werden.^[119] Erst etwa drei Tage nach der Ausscheidung bilden sich Sporozoiten in den Oozysten, die nun außerordentlich infektiös sind. Über diese Form gelangt der Erreger von seinem Endwirt in Zwischenwirte wie Mäuse, Vögel, Menschen und seine Nutztiere wie z. B. Schweine (Abb. 18). In Versuchen konnte gezeigt werden, dass Mäuse, Schweine und wahrscheinlich auch Menschen mit bereits einer Oozyste infiziert werden können.^[120]

Tachyzoiten sind das häufigste Entwicklungsstadium in jedem akut infizierten Tier. Sie sind motiler als Bradyzoiten, können jede Zelle mit Zellkern infizieren^[121] und teilen sich darauf deutlich schneller als Bradyzoiten. Bevorzugt befallen sie Zellen des retikulohistiozytären Systems, wozu Makrophagen und deren Vorläuferzellen im Endothelgewebe zählen.^[113] In diesen Immunzellen gelangen sie über die Blutbahn in das Gewebe aller Organe, inklusive sonst durch hochselektive Schranken geschützte Bereiche wie Retina, Plazenta, Zentrales

Nervensystem (ZNS) und Hoden.^[122] Erfolgt eine Immunantwort des erkrankten Tiers, wandeln sich die Tachyzoiten zu Bradyzoiten um und verkapseln sich in einer Zyste. In dieser Form stellen sie ein Ruhestadium dar, das während der gesamten Lebenszeit des Wirtes reaktiviert werden kann. Wenn ein akut erkranktes Tier vor Bildung dieser Zysten gefressen wird, kann es seinen Prädatoren auch über Tachyzoiten infizieren.

Insgesamt existieren also mit Tachyzoiten (im gesamten Körper akut infizierter Tiere), Bradyzoiten (in Gewebezysten) und Sporozoiten (in reifen Oozysten) drei Stadien, die jeweils sowohl den Endwirt, als auch den Zwischenwirt infizieren können. Nager und Vögel sind die wichtigsten Zwischenwirte, da sie als Herbivoren den Parasiten in Oozysten über kontaminierte Nahrung aufnehmen. Gleichzeitig sind sie Beutetiere der Felidae und ermöglichen *T. gondii* so den sexuellen Vermehrungszyklus. Katzen infizieren sich über alle drei genannten infektiösen Formen, wobei die Gewebezysten infizierter Beutetiere für sie um ein Vielfaches infektiöser sind als Tachyzoiten aus akut infizierter Beute und Oozysten über fäkal-orale Übertragung.^[123] Auch Menschen können sich durch alle drei Entwicklungsstadien infizieren. In der Praxis werden Gewebezysten mit infiziertem und nicht ausreichend gegartem Fleisch über die Nahrung aufgenommen. Die Infektion durch Oozysten aus dem Kot der Katze geschieht direkt über Schmierinfektion oder über kontaminiertes, unzureichend gekochtes Gemüse (Abb. 18). Epidemieartige Erkrankungen durch Kontamination des Trinkwassers wurden ebenfalls nachgewiesen.^[124]

A.3.2. Veränderungen der Wirtszelle

Intrazellulär lebende Parasiten sind gewöhnlich auf ihre Wirtszelle hochspezialisiert, gleichzeitig sind verschiedene Wirtszelltypen selbst hinsichtlich ihres Aufbaus und Stoffwechsels stark differenziert. Beispielsweise unterscheiden sie sich in der Antigenkomposition auf der Zelloberfläche, der Fähigkeit Nährstoffe selbst zu synthetisieren oder extrazelluläre Substanzen in die Zelle aufzunehmen. Parasiten benötigen also individuelle Mechanismen, um den passenden Zelltyp zu erkennen, ihn zu infizieren und seine Ressourcen für das eigene Wachstum zu nutzen. Darüber hinaus passen Parasiten den Metabolismus ihrer Wirtszelle an die eigenen Bedürfnisse an, indem sie regulatorische Mechanismen der zellulären Biosynthese verändern.^[125,126,127]

Toxoplasma stellt innerhalb des Stamms der Apicomplexa eine Ausnahme dar, denn sie können jede Zelle mit einem Zellkern infizieren. Anders als Erythrozyten können diese Zellen für den Parasiten wertvolle Nährstoffe, wie Proteine und Lipide selbst synthetisieren. *Toxoplasma*

ist also, verglichen mit *Plasmodium*, weniger auf den Import dieser Substanzen aus dem Serum angewiesen. Dazu passend findet man in Zellen, die von *Toxoplasma* befallen sind, kein TVN oder Proteine des Parasiten in der Wirtszellmembran, wie es von *Plasmodium* bekannt ist. Auch die in diesem Zusammenhang auftretende auffällige Erhöhung der Permeabilität der Plasmamembran der Wirtszelle wurde bisher nicht beobachtet.^[128] Sowohl *Toxoplasma* wie *Plasmodium* bilden in der Wirtszelle ein neues Kompartiment, in dem sie sich vermehren. Diese parasitophore Vakuole wird vom Zytosol der Wirtszelle durch eine Membran getrennt (PVM) und assoziiert in *Toxoplasma*-infizierten Zellen mit Mitochondrien und dem endoplasmatischen Retikulum (EPR) des Wirts.^[129] In Erythrozyten sind diese beiden Organellen jedoch nicht vorhanden (Abb. 19).

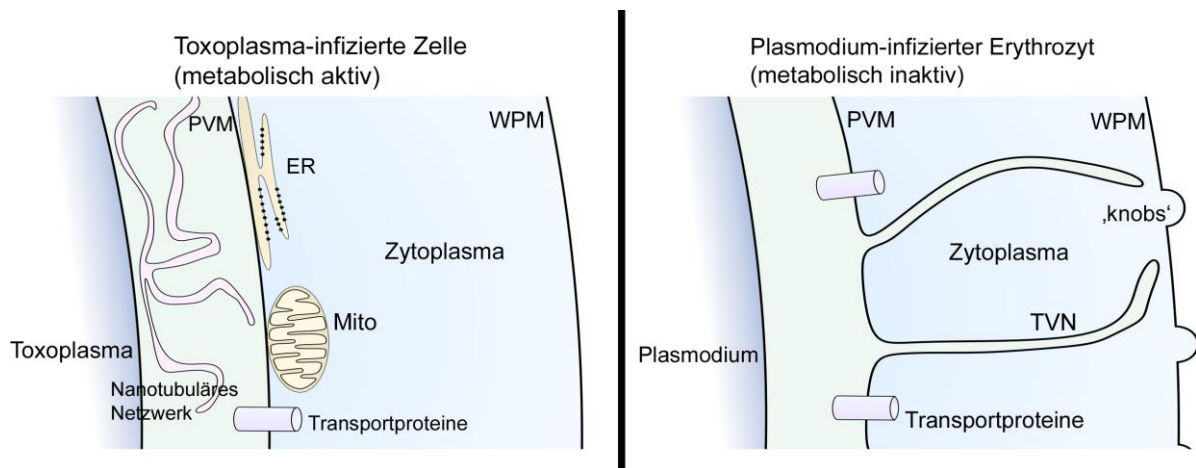


Abbildung 19. WPM Plasmamembran der Wirtszelle, PVM: Membran der parasitophoren Vakuole. TVN: Tubovesikuläres Netzwerk. ER: Endoplasmatisches Retikulum. Mito: Mitochondrium. Nach LINGELBACH und JOINER.^[130]

Durch die unterschiedliche intrazelluläre Lebensweise können sich antiparasitäre Wirkstoffe in ihrer Wirksamkeit gegen *Toxoplasma* und *Plasmodium* unterscheiden. Zum einen kann eine geringere Permeabilität der Plasmamembran der infizierten Zelle und der PVM eine Resistenz gegenüber antiparasitären Wirkstoffen bedeuten. Das hochpolare Antibiotikum Fosmidomycin (**14**) beispielsweise wirkt gut gegen Plasmodien und wird wahrscheinlich durch NPPs aufgenommen. Gegen *Toxoplasma* ist dieser Wirkstoff jedoch auf Grund fehlender Transporter unwirksam.^[131] Zum anderen ist ein intrazellulärer Parasit möglicherweise in einer metabolisch aktiven Zelle weniger auf die eigene Biosynthese von Ressourcen angewiesen als in einer metabolisch inaktiven. Wirkstoffe, die anabole parasitäre Stoffwechselwege hemmen, können daher auf *Toxoplasma* und *Plasmodium* unterschiedliche Effekte haben.

A.3.3. Toxoplasmose des Menschen und Wirkstoffe in der Therapie

Nach einer Erstinfektion durch *T. gondii* erkranken gesunde Erwachsene und Kinder in 80-90 % der Fälle symptomlos oder ansonsten unter grippeähnlicher Symptomatik. Äußerst selten tritt eine Chorioretinitis (Netzhaut und Aderhautentzündung) oder Enzephalitis auf. Erkrankte sind nach überstandener Erstinfektion immun, können jedoch chronisch infiziert bleiben. Hierbei bilden sich Dauerformen des Erregers in Form von Zysten, der weitere Verlauf ist jedoch in Immunkompetenten meist völlig latent.^[57]

Die Reaktivierung einer derartigen latenten Infektion kann jedoch in immunsupprimierten Personen zu einer schweren Erkrankung in Form einer potenziell tödlichen Enzephalitis führen. Diese kann sich in einer Hemiparese, kognitiver Beeinträchtigung, und Krampfanfällen äußern. Symptome entwickeln sich subakut über mehrere Wochen hinweg und werden teilweise von Fieber und Kopfschmerzen begleitet. Meist sind AIDS-Patienten oder transplantierte Patienten betroffen.^[57]

Eine große Gefahr stellt die Toxoplasmose für das ungeborene Kind dar, wenn die Mutter erstmals während der Schwangerschaft erkrankt und damit noch nicht immun ist. In vielen dieser Fälle führt die Krankheit zum Abort bzw. Tod des Fötus. Nach ihrer Geburt zeigen Säuglinge, die im Mutterleib erkrankt sind, ausgeprägte Symptome von Hydrozephalus, Vergrößerung von Milz und Leber mit Gelbsucht, Chorioretinitis und kognitiven Defiziten. Treten bei einer chronisch erkrankten Mutter während der Schwangerschaft Symptome einer Infektion auf, ist das ungeborene Kind hierdurch nicht gefährdet.^[57,132]

Eine Therapie ist indiziert bei der pränatalen Toxoplasmose von Neugeborenen, Augenerkrankungen durch Toxoplasmose und akuter Toxoplasmose bei Immunsupprimierten. Auch bei einer Infektion der Mutter wird therapiert, eine daraus folgende Reduktion von Folgeschäden des Kindes ist jedoch nicht belegt. Die Therapieoptionen der akuten Toxoplasmose haben sich innerhalb der letzten Jahrzehnte nicht verändert. Verwendet werden Hemmstoffe der parasitären Folsäure- und Proteinbiosynthese, die aus der Malariatherapie bekannt sind und auf Grund der nahen Verwandtschaft von *Toxoplasma* und dem Malariaerreger gegen beide Organismen wirken. Eingesetzt werden Pyrimethamin (**7**), die Antibiotika Clindamycin (**13**) und Spiramycin (**22**) und das Sulfonamid Sulfadiazin (**23**). Diese Wirkstoffe sind gegen Tachyzoiten wirksam, jedoch kaum gegen die Dauerformen in Gewebezysten. Um die Entzündungsreaktion bei einer Chorioretinitis oder Enzephalitis zu behandeln, werden oft zusätzlich Kortikosteroide gegeben.^[57,133]

Pyrimethamin (**7**) ist der effektivste Wirkstoff als Monotherapie^[134,135] ($IC_{50} = 0,3-1,6 \mu M$ ^[136] an unterschiedlichen Stämme) und wirkt deutlich synergistisch mit Sulfadiazin (**23**, Abb. 20).^[137] Laut Empfehlung des Robert Koch Instituts umfasst eine Therapie gewöhnlich diese beiden Wirkstoffe sowie ein Kortikosteroid bei Toxoplasmose-bedingten Entzündungen. Die Therapie der zweiten Wahl, etwa bei einer Sulfonamid-Unverträglichkeit, besteht aus einer Kombination von Clindamycin (**13**) und Pyrimethamin (**7**). Für Schwangere wird bis zur 16. Schwangerschaftswoche statt dessen Spiramycin (**22**) empfohlen.^[57]

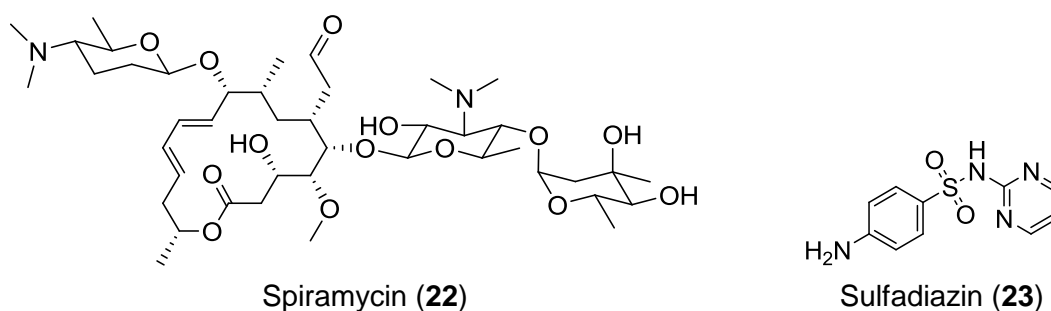


Abbildung 20: Chemische Strukturen von Wirkstoffen gegen Toxoplasmose.

Insgesamt stehen nur wenige Wirkstoffe zur Therapie der Toxoplasmose zur Verfügung, wobei sich deren Wirkung auf die aktiven Stadien von *Toxoplasma* beschränkt. Ausreichende Wirksamkeit ist nur bei einer vergleichsweise aggressiven Therapie gegeben, die sich über mehrere Wochen erstrecken muss. Da die Standardtherapie ein Sulfonamid in einer Tagesdosierung von mehreren Gramm^[133] vorsieht, kommt es während der Einnahme häufig zu Unverträglichkeitsreaktionen.^[133,138]

A.4. Lipid-Metabolismus in Plasmodien

Während des Wachstums der Plasmodien in ihren Wirtszellen sind große Mengen an Lipiden essenziell. Die Ausbildung des bereits beschriebenen tubovesikulären Netzwerks sowie die Vervielfältigung des Parasiten um das bis zu 36-fache^[139] machen eine deutliche Zunahme an Membranen erforderlich. Diese sind hauptsächlich aus Lipiden wie Glycerophospholipiden und Sphingolipiden aufgebaut (Abb. 21).^[140,141] Entsprechend steigt der Lipidgehalt in der Wirtszelle während des intraerythrozytären Entwicklungszyklus von Plasmodien insgesamt um ein Vielfaches.^[142,143]

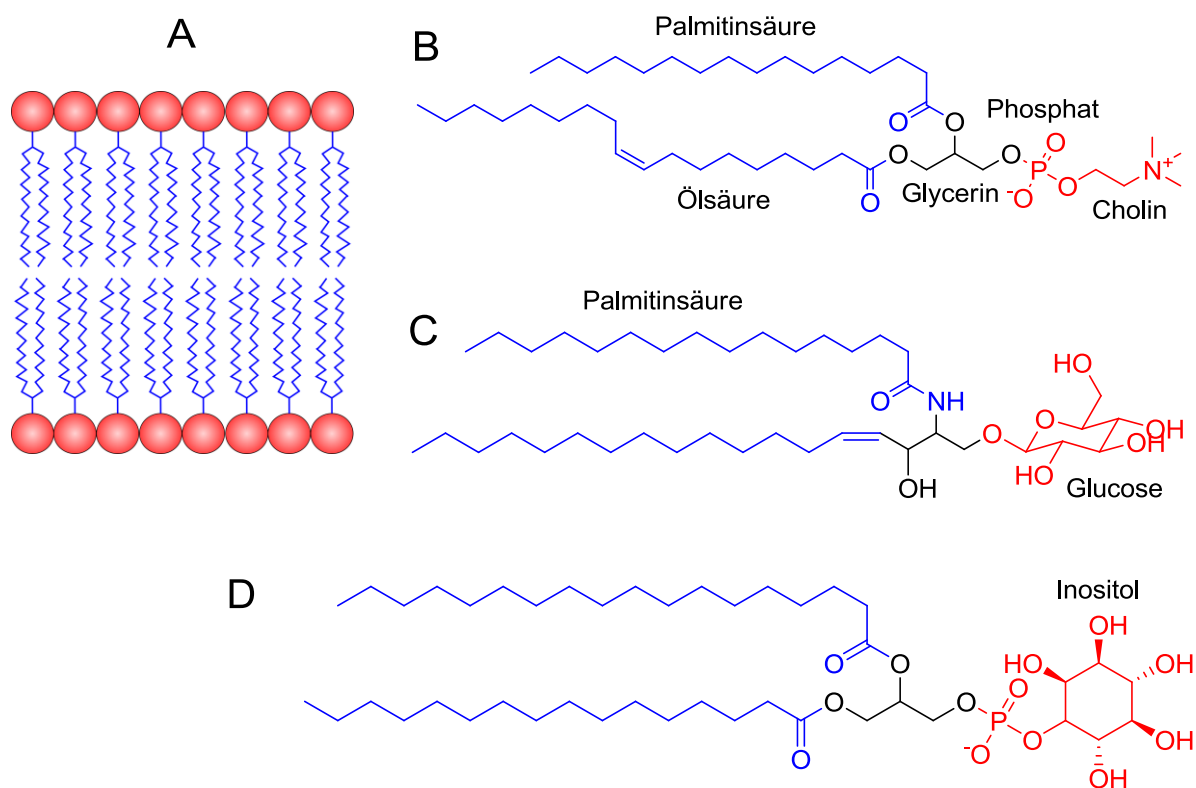


Abbildung 21: A: Schematischer Aufbau von Biomembranen. Rot: Hydrophiler Teil in wässriger Umgebung, Alkylketten bilden den lipophilen Teil (blau). B: Glycerophospholipidderivat. C: Glycosphingolipidderivat. D: Phosphatidylinositolderivat.

Phosphatidylinositolderivate (Abb. 21) bilden eine kleinere Gruppe innerhalb der Glycerophospholipide und haben neben dem Aufbau von Biomembranen weitere für den Parasiten wichtige Funktionen. Zum einen bildet der Parasit hieraus Phosphatidylinositol-Phosphate wie Phosphatidylinositol-3-Phosphat, die essenziell für den vesikulären Transport innerhalb des Erythrozyten sind.^[144] Zusätzlich synthetisieren Plasmodien aus Phosphatidylinositolderivaten Glycosylphosphatidylinositol-Moleküle, die zur Verankerung von Proteinen in der Plasmamembran der Plasmodien benötigt werden (GPI Anker, Abb. 22).^[145]

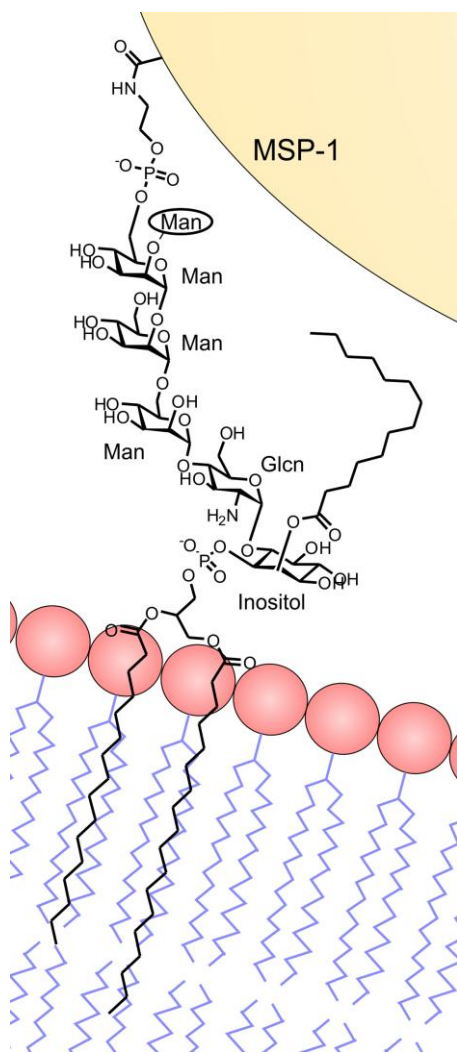


Abbildung 22: Aufbau eines GPI-Ankers von *P. falciparum*. Man: Mannose. Glcn: Glucosamin. MSP-1: *Merozoite surface protein*.

teilt.^[151,152]

Ein weiterer, großer Teil der benötigten Lipide wird von den Plasmodien selbst synthetisiert.^[153] Für die Synthese von Glycerophospholipid-,^[154] Sphingolipid-^[155,156] sowie Acylglyceridderivaten^[146,147] benötigen Plasmodien große Mengen an Fettsäuren (FA). Diese gehören, wie Phospholipide selbst, zur Gruppe der Lipide und bestehen aus einer in der Regel unverzweigten Kette von Kohlenstoffatomen unterschiedlicher Länge mit terminaler Carboxylfunktion (Abb. 21). Im nichtinfizierten Erythrozyten wie auch in Plasmodien existiert eine Vielzahl FA unterschiedlicher Länge, in beiden Organismen weist aber über die Hälfte aller FA eine Kettenlänge von 16 oder 18 Kohlenstoffatomen auf.^[142] Die FA mit einer Alkylkette von mehr als 22 Kohlenstoffatomen bezeichnet man als *very long chain fatty acids* (engl.: sehr langkettige Fettsäuren, VLCFA). Außerdem können FA, unabhängig von ihrer Länge, an

Eine weitere Lipidklasse, die Plasmodien in infizierten Erythrozyten bilden, sind Acylglyceride. Diese Lipide formieren sich zu Lipidkörperchen, die abhängig vom Entwicklungsstadium des Parasiten in unterschiedlichen Kompartimenten der Zelle auftreten. Im Trophozoiten-Stadium des Parasiten finden sie sich insbesondere in der Nahrungsvakuole.^[146,147] Warum der Parasit diese Lipide synthetisiert ist nicht geklärt, es konnte jedoch gezeigt werden, dass die Lipidkörperchen die Energiebarriere für die Kristallisation des Hämozins deutlich senken, was möglicherweise auf eine Rolle der Acylglyceride bei der Entgiftung von Hämoglobin-Abbauprodukten deutet.^[148]

Da reife Erythrozyten, die 99 % des Zelltyps darstellen, Lipide nur sehr begrenzt selbst synthetisieren können,^[149] müssen Plasmodien diese Verbindungen entweder selbst synthetisieren oder aus dem Serum in den Erythrozyten importieren.^[150] Der Import von Lipiden aus dem Serum in den infizierten Erythrozyten erfolgt aktiv durch Transportproteine, die der Parasit zuvor in die Plasmamembran seiner Wirtszelle eingelagert hat.^[151] Aufgenommene Lipide werden über das TVN zum Parasiten transportiert oder im Erythrozyten ver-

unterschiedlichen Positionen ihrer Alkylkette einfach oder mehrfach ungesättigt sein. FA werden hauptsächlich zur Synthese von Phospholipidmembranen verwendet.

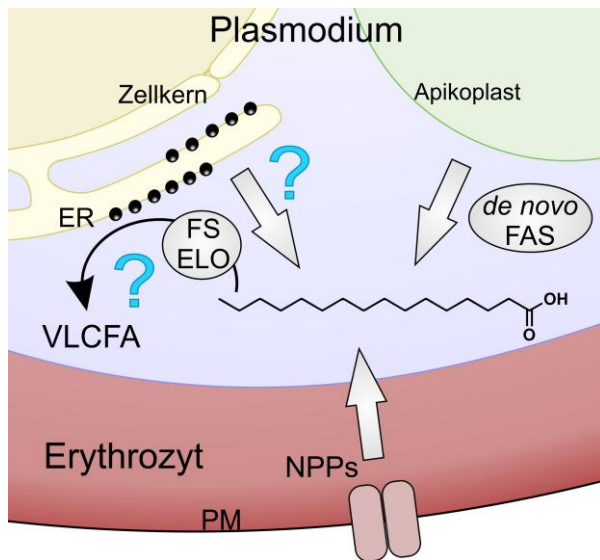


Abbildung 23: Erwerb von Fettsäuren durch Plasmodien im Erythrozyten. Vereinfacht, schematisiert. PM: Plasmamembran des Erythrozyten.

nen HDLs versorgt, werden keine freien FA im Medium benötigt, um vergleichbares Wachstum und Parasitämie zu erreichen.^[160] Plasmodien können offensichtlich alle benötigten FA auch aus Lipoproteinen gewinnen.

Bezüglich ihres Lipidmetabolismus und des Erwerbs von FA unterscheiden sich intraerythrozytäre Formen von Entwicklungsstadien in der Leber. Die einer Malariaerkrankung vorausgehende Vermehrung von *Plasmodium* in Hepatozyten führt zu zehntausenden infektiösen Merozoiten,^[161] wohingegen ein infizierter Erythrozyt zwischen acht und 36 Merozoiten ins Blut entlässt.^[139] Einzelne Entwicklungsstadien von *Plasmodium* unterscheiden sich daher in ihren metabolischen Anforderungen, gleichzeitig findet der Parasit im Hepatozyten deutlich andere Lebensbedingungen vor als im Erythrozyten. Hepatozyten besitzen einen Zellkern und können im Gegensatz zu Erythrozyten Proteine und Lipide synthetisieren, außerdem sind sie zur Endozytose und zum vesikulären Transport fähig. Ein Parasit ist daher weniger vom Import von Nährstoffen in die Wirtszelle abhängig, zusätzlich entfällt der Aufbau eines eigenen Transportsystems. Vom Hepatozyten selbst gebildete Lipide decken aber offenbar nicht die hohen Anforderungen der Plasmodien in diesem Entwicklungsstadium und stellen einen begrenzenden Faktor dar. In veränderten Hepatozyten der Ratte, deren Lipidgehalt erhöht ist, findet man deutlich mehr und vergrößerte Leberschizonten. Außerdem wurden in infizierten Hepatozyten Proteine von Plasmodien identifiziert, die mit bestehenden Transportern in der Plasmamembran der Wirtszelle interagieren und so den Import von FA steigern.^[159]

Für intraerythrozytär lebende Plasmodien ist eine Versorgung mit nur wenigen Fettsäuren essenziell: *P. falciparum* überlebt beispielsweise in serumfreier Kultur unter anderem, wenn eine Versorgung mit Palmitinsäure und Ölsäure gewährleistet wird.^[157,158] Die Mechanismen der Aufnahme von FA aus dem Serum des Wirts in den infizierten Erythrozyten ist nicht geklärt, erfolgt aber wahrscheinlich über vom Parasit induzierte *new permeability pathways* (Abb. 23).^[159] Wird der Parasit in serumfreier Kultur mit huma-

Neben der Aufnahme aus dem Serum des Wirts können Plasmodien FA auch *de novo* (lat.: „vom Anfang an“) synthetisieren, die Enzyme der Fettsäuresynthese befinden sich im Apikoplasten (Abb. 23). Dieser Stoffwechselweg wird jedoch nicht in allen Entwicklungsstadien genutzt, in manchen Abschnitten der Entwicklung^d werden entsprechende Enzyme für die Fettsäuresynthese vom Parasiten gar nicht gebildet.^[162,163]

^d Das Expressionsmuster von FAS II-Enzymen in den einzelnen Entwicklungsstadien und deren Bedeutung für Plasmodien wird in A.5.1. beschrieben.

A.4.1 Fettsäuresynthese

Fettsäuresynthese beschreibt die Biosynthese von FA aus den biologischen Präkursoren Acetyl-CoA und Malonyl-CoA durch entsprechende Enzyme. FA können entweder *de novo* synthetisiert, ausschließlich mit der Nahrung aufgenommen (essenzielle FA) oder durch Modifikation von aufgenommenen FA hergestellt werden. Die Mechanismen der Fettsäuresynthese (*fatty acid synthesis*, FAS) sind in allen Organismen prinzipiell sehr ähnlich, dennoch gibt es, insbesondere zwischen den beteiligten Enzymen, deutliche Unterschiede: Die *de novo* FAS eukaryotischer Zellen und Pilzen unterscheidet sich von der FAS in den meisten Prokaryoten und Pflanzen. Zusätzlich lässt sich eine grobe Unterteilung in *de novo* FAS und Fettsäure-Elongation treffen. VLCFA werden gewöhnlich nicht *de novo* synthetisiert, vielmehr werden bestehende Fettsäuren weiter durch FA-Elongation verlängert.

A.4.1.1. Typ I FAS

90 % der Fettsäuren in Säugetieren werden *de novo* im Zytoplasma synthetisiert, wobei Acetyl-CoA, wie in jedem FAS System, den wichtigsten Ausgangsstoff darstellt. Die direkte Bildung von Acetyl-CoA aus Pyruvat durch Pyruvat-Dehydrogenasen erfolgt in Eukaryoten nur in den Mitochondrien, im Zytosol wird die aktivierte C₂-Einheit daher durch die ATP-Citrat-Lyase aus Citrat gebildet.^[164]

Im Gegensatz zu den meisten Prokaryoten und Pflanzen erfolgt in Säugetieren und Pilzen die Synthese von FA durch ein großes, multifunktionales Enzym im Zytosol. Ein derartiges Enzym findet sich außerdem in *Mycobacterium spp.*, wozu der Erreger der Tuberkulose zählt und in wenigen anderen Bakterien. Das Fettsäure-Synthase-Enzym besteht aus zwei identischen Peptiden mit jeweils sieben Domänen (Abb. 24). Jede der Domänen besitzt ein eigenes aktives Zentrum, und katalysiert jeweils eine der sieben Teilreaktionen der *de novo* FAS (Typ I FAS, siehe Abb. 25).^[164]

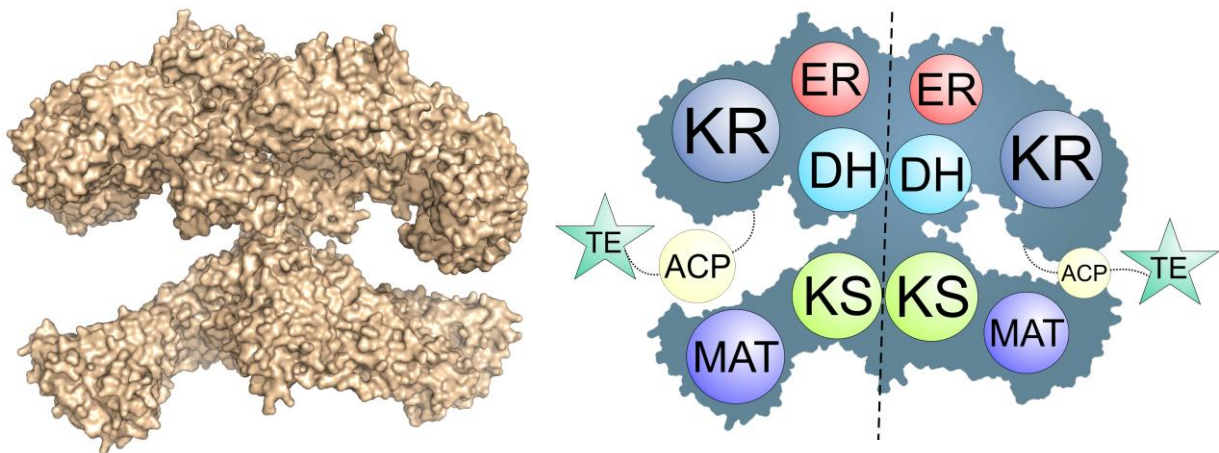


Abbildung 24: Fettsäure-Synthase des Menschen. Links: PDB 2VZ9,^[165] visualisiert mit PyMOL.^[166] Rechts: Schematische Anordnung der einzelnen Domänen der humanen Fettsäuresynthase. ACP: *Acyl-Carrier-Protein*. KS: β -Ketoacyl-Synthase. DH: Dehydratase. KR: Ketoreduktase. MAT: Malonyl-CoA-/Acetyl-CoA-ACP Transacylase. ER: Enoyl-Reduktase. TE: Thioesterase.

Der Aufbau jeder Fettsäure erfolgt ausgehend von Acetyl-CoA (Abb. 25). Dieses stammt hauptsächlich aus Pyruvat, zum Teil auch aus dem Abbau von Aminosäuren und FA (β -Oxidation). Aus Acetyl-CoA entsteht zum einen, von der Acetyl-CoA-Carboxylase (ACC) katalysiert, Malonyl-CoA, zum anderen ist es Ausgangsstoff der FA, die im folgenden zyklusweise aus Malonyl-ACP aufgebaut werden. Zur Biosynthese von Malonyl-ACP und Acetyl-ACP werden die entsprechenden CoA-aktivierten Derivate von der Acyltransferase Malonyl-CoA-/Acetyl-CoA-ACP-Transacylase (MAT) mit der *Acyl-Carrier-Protein* (ACP)-Domäne der Fettsäuresynthase verestert. Transferasen übertragen Acetyl-ACP bzw. die entstehende, ACP-gebundene Fettsäure (Acyl-ACP) auf das aktive Zentrum der β -Ketoacyl-Synthase-Domäne (KS). Dort wird die Kondensation mit Malonyl-ACP unter Decarboxylierung zu einem β -Ketoacylderivat (β -Ketoacyl-ACP) katalysiert, was gleichzeitig das erste Intermediat des sich anschließenden Elongationszyklus der Typ I FAS darstellt.^[164]

Die Ketoreduktase-Domäne (KR) reduziert die Ketogruppe des β -Ketoacyl-Intermediats zum Alkohol (β -Hydroxyacyl-ACP), anschließend wird an der Dehydratase-Domäne (DH) die Hydroxylgruppe unter Wasserabspaltung entfernt. Das ungesättigte Intermediat (*trans*-2-Enoyl-ACP) wird durch die Enoyl-Reduktase-Domäne (ER) zum gesättigten Acylderivat (Acyl-ACP) hydriert. Die ACP-veresterte, gesättigte Fettsäure kann nun entweder wieder mit einer Malonyleinheit kondensiert werden und somit den Kreislauf schließen, oder als fertige Fettsäure von der Fettsäuresynthase entfernt werden.^[164]

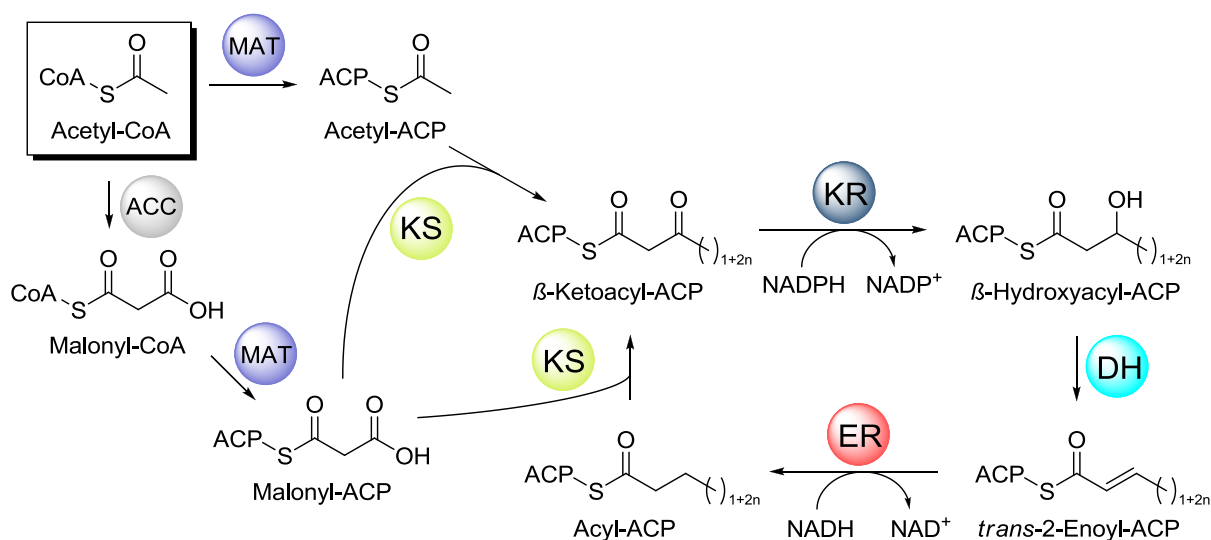


Abbildung 25: Schema der Typ I FAS.

Typischerweise wiederholt sich der Kreislauf, bis die gebildete Fettsäure eine Kettenlänge von 16 oder 18 Kohlenstoffatomen aufweist, dabei ist das Hauptprodukt der Typ I FAS die C₁₆-Fettsäure Palmitat.^[164] Während dieses Aufbaus bleibt die Fettsäure an die Fettsäuresynthase gebunden, hierbei wird das Intermediat pro Zyklus formal um 2 Methyleneinheiten verlängert. Das ACP hat die Funktion, die wachsende Fettsäure zwischen den Teilreaktionen zu den einzelnen Domänen der Fettsäuresynthase zu befördern und dort auf Aminosäuren der jeweiligen aktiven Zentren zu übertragen.

Ist die gewünschte Kettenlänge erreicht, wird das Acyl-ACP-Intermediat nicht weiter verlängert, sondern von der Thioesterase-Domäne (TE) durch Hydrolyse der Thioesterbindung zwischen der nun fertigen Fettsäure und dem ACP von der Fettsäuresynthase getrennt. Die Aktivität der TE-Domäne bestimmt letztlich die Länge der Alkylkette der freien FA.^[167]

Die Typ I FAS im Menschen ist ein potenzielles pharmakologisches *target* bei verschiedenen Erkrankungen. In vielen Krebszellen wird die Fettsäuresynthase überexprimiert und entsprechend zeigen Inhibitoren der Fettsäuresynthase wie Cerulenin (**24**, Abb. 26) einen antiproliferativen Effekt in unterschiedlichem neoplastischen Gewebe.^[168,169]

Inhibition der FAS beeinflusst zudem die Expression des Peroxisom Proliferator aktivierten Rezeptors α (PPAR α). Dieser Rezeptor reguliert als Transkriptionsfaktor Aufnahme und Verwertung von FA aus dem Blut sowie Glukoneogenese.^[170,171] FAS-Inhibitoren verhindern möglicherweise die Bildung endogener Liganden des PPAR- α ^[172] und könnten daher metabolische Störungen wie Dyslipidämie, Adipositas und Diabetes günstig beeinflussen.^[173] Das Antibiotikum Platensimycin (**25**) hemmt nicht nur die FAS von Bakterien, sondern auch die humane Fettsäuresynthase mit einer IC₅₀ von 0,3 μ M. Im Maus-Modell für Diabetes senkt der

Wirkstoff den Gehalt an Triglyceriden in der Leber und den Glukosegehalt im Blut, zusätzlich wird die Insulinsensitivität erhöht.^[174]

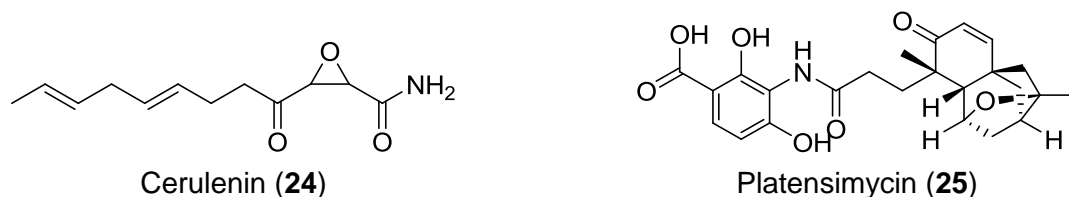


Abbildung 26: FAS-Inhibitoren als potenzielle Antineoplastika und Antidiabetika.

(-)-Epigallocatechingallat (26), das häufigste Polyphenol im grünen Tee, und Chlorogensäure (27, Abb. 27) sind ebenfalls Inhibitoren der Typ I Fettsäuresynthese. Hiermit wird ein positiver Effekt der Naturstoffe bei unterschiedlichen metabolischen Erkrankungen in Verbindung gebracht.^[175,176,177,178] Die Wirkung von Flavonoiden auf isolierte Enzyme ist jedoch durch Aggregatbildung oft unspezifisch und Ergebnisse aus Enzym-Assays entsprechend möglicherweise falsch positiv.^[179,180,181]

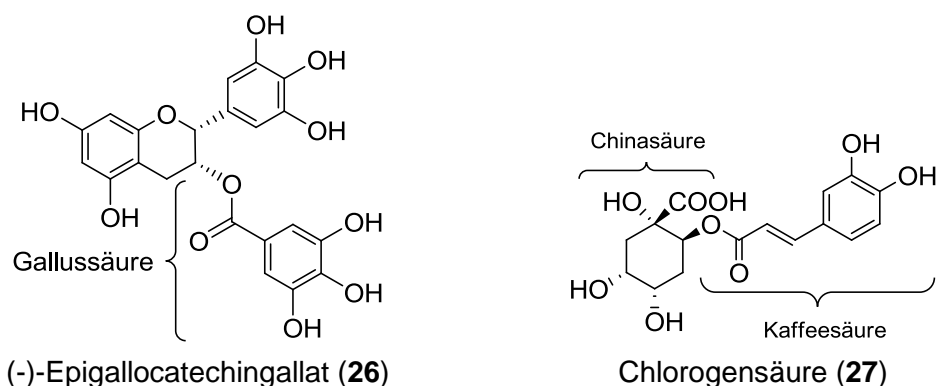


Abbildung 27: Naturstoffe als potenzielle Typ I FAS-Inhibitoren.

A.4.1.2. Typ II FAS

Pflanzen, Bakterien und einige Parasiten verwenden zur Synthese von FA separate, in ihrer Funktion den Domänen der multifunktionalen Fettsäuresynthase entsprechende Enzyme (Typ II FAS, FAS II). *Plasmodium* und *Toxoplasma* können auf diese Weise in ihrem Apikoplasten Fettsäuren *de novo* synthetisieren, um sie im Anschluss in das Zytoplasma zu transportieren. Die Enzyme der Typ II FAS sind nukleär in Gruppen von *Fab* (*fatty acid biosynthesis*)-Genen kodiert und in Apicomplexa mit Signalsequenzen versehen, die sie in den Apikoplasten überführen.^[182]

Gemäß der Nomenklatur der Gene und Proteine in Bakterien wird auch für *Plasmodium* und *Toxoplasma* der Name des Gens ebenso für sein Genprodukt verwendet.^[183] Gene werden konventionell kursiv geschrieben und das Genprodukt normal, um es davon abzugrenzen: Z. B. wird das Schlüsselenzym der Typ II FAS als FabI bezeichnet, gleichzeitig ist *FabI* die Bezeichnung seines Gens. Um das spezielle Protein oder Gen einer Art zu kennzeichnen, setzt man die Abkürzung der taxonomischen Bezeichnung von Gattung und Art direkt vor die Bezeichnung des entsprechenden Proteins oder Gens, z. B. *TgFabI* respektive *PfFabI*.^[184]

Auf Grund des inkohärenten Aufbaus bleibt das FA-Intermediat während der Typ II FAS nicht enzymgebunden, wodurch diese, verglichen mit dem multifunktionalen Polypeptid der Typ I FAS, wie sie etwa im Menschen vorkommt, als weniger effektiv gilt.^[185] Im Gegensatz zur Fettsäuresynthese des Menschen, die gewöhnlich nur die C₁₆-Fettsäure Palmitat synthetisiert, ist das Typ II FAS-System von Mikroorganismen und Pflanzen jedoch weit vielseitiger. Typ II FAS kann eine größere Zahl hinsichtlich Länge und Sättigung ihrer Alkylkette unterschiedliche Fettsäuren herstellen (Abb. 29). Außerdem können ihre ACP-gebundenen Intermediate gleichzeitig Präkursoren anderer aufbauender Stoffwechselwege wie die der Biosynthese von Liponsäure (**28**, Abb. 28) sein.^[186]

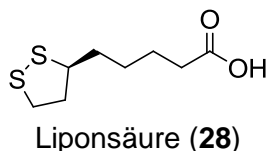


Abbildung 28: Chemische Struktur der Liponsäure.

Ausgangsstoff der Fettsäuresynthese ist hier, wie in der Typ I FAS, Acetyl-CoA und wird in Plasmodien durch die Acetyl-CoA-Synthase aus Acetat oder durch die Pyruvatdehydrogenase aus Pyruvat gewonnen.^[187] Acetyl-CoA wird analog zur Typ I FAS von einer Acetyl-CoA-Carboxylase (ACC) zu Malonyl-CoA carboxyliert. Der Malonylrest wird daraufhin von der Malonyl-CoA-ACP Transacylase (FabD) auf ein ungebundenes *Acyl-Carrier-Protein* (ACP) übertragen. Die aktivierte C₂-Acyleinheit wird, wie auch in der Typ I FAS, zur Verlängerung der wachsenden Fettsäure verwendet. Die Kondensation erfolgt durch die β -Ketoacyl-ACP-Synthase III (FabH) aus Acetyl-CoA und Malonyl-ACP. Das gebildete β -Ketoacyl-ACP-Intermediat wird NADPH-abhängig von der β -Ketoacyl-ACP-Reduktase (FabG) zu einem β -Hydroxyacyl-ACP-Derivat reduziert.

Dehydratasen bilden schließlich 2-Enoyl-ACP-Derivate durch Abspaltung von Wasser. *Plasmodium* besitzt mit *FabA* and *FabZ* zwei Gene, die für Dehydratasen kodieren. Beide bilden

ein α,β -ungesättigtes Acyl-ACP-Derivat, FabA setzt jedoch ausschließlich das C₁₀-Acylintermediat β -Hydroxydecanoyl-ACP um. Zusätzlich hat FabA die Funktion einer Isomerase, die *trans*-2-Decenoyl-ACP teilweise in *cis*-3-Decenoyl-ACP überführt. Dieses *cis*-3-Acyl-ACP kann von FabB anschließend weiter mit Malonyl-CoA kondensiert werden und behält in folgenden Verlängerungszyklen seine Doppelbindung.

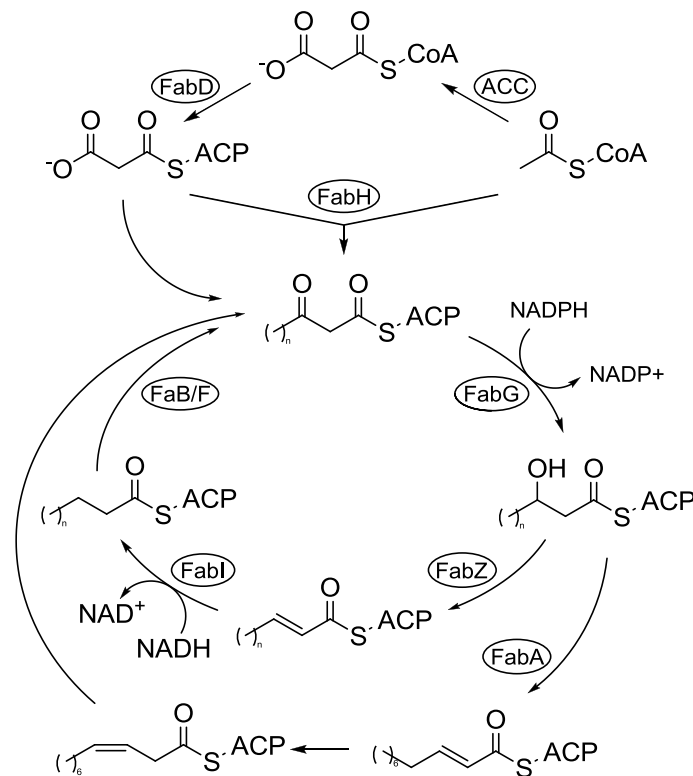


Abbildung 29: Schema der Typ II Fettsäuresynthese.

Gewöhnlich werden β -Hydroxyacyl-ACP-Derivate jedoch von FabZ dehydratisiert und NADH-abhängig von der Enoyl-ACP-Reduktase (FabI, ENR) reduziert. Soll die FA weiter verlängert werden, kondensieren die β -Ketoacyl-ACP-Synthasen (FabB/F) das FA-Intermediat ein weiteres Mal mit Malonyl-ACP. In folgenden Zyklen wird das Acyl-Intermediat verlängert, bis die Fettsäure der gewünschten Kettenlänge gebildet ist (Abb. 29). Wie dieser Typ II FAS-Zyklus in Plasmodien unterbrochen wird, und die fertige, über eine Thioesterbindung an das ACP gebundene FA freigesetzt wird, ist nicht bekannt. Eine Thioesterase, wie sie im Typ I FAS System vorkommt, um die Fettsäure vom ACP zu trennen, wurde in Plasmodien noch nicht gefunden.^[185]

Die einzelnen Enzyme der Fettsäuresynthese sind in unterschiedlichen Organismen über die Grenzen der Arten hinweg und sogar zwischen den Domänen der Lebewesen konserviert.^[188] Das Bakterium *Escherichia coli* produziert z. B. auch weitere Fettsäuren, wenn man einzelne

beteiligte Enzyme durch Analoga aus Pflanzen ersetzt.^[189] Die FAS-Enzyme von *P. falciparum* oder *T. gondii* weisen in ihrer Sequenz eine höhere Homologie zu analogen Enzymen in Pflanzen als zu bakteriellen FAS-Enzymen auf. Beispielsweise findet das BLAST Programm^[190] für das Enoyl-ACP-Reduktase-Enzym aus *P. falciparum* nur 25 % Sequenzidentität (51 % ähnliche^e Aminosäuren) zum analogen Enzym in *E. coli*, dagegen 48 % (60 %) zur *Brassica napus* (Raps) ENR. Die Enoyl-ACP-Reduktase aus *T. gondii* stimmt in 31 % (47 %) ihrer Sequenz mit der *EcENR* überein und zeigt 66 % (82 %) Sequenzidentität zur ENR aus *B. napus*.

Außer der Typ I FAS im Zytoplasma findet man in dem Mitochondrien eukaryotischer Zellen auch einen Typ II Biosyntheseweg. Diese Erkenntnis passt zum Gedanken der Endosymbiontentheorie, nach der Mitochondrien wie auch Plastide ursprünglich von Bakterien stammen, die in der frühen Evolution von anderen Zellen aufgenommen wurden. Tatsächlich deutet die Gensequenz der mitochondrialen DNS aus Eukaryoten auf eine Abstammung von Eubakterien.^[191] Ganz ähnlich den Bakterien findet man in Mitochondrien dissoziierte FAS-Enzyme, von denen aber nur ein Teil eine Homologie zu den typischen FAS II-Enzymen aufweist.^[192] Andere Enzyme, wie die ACC, ähneln hingegen eher dem analogen FAS I-Enzym im Zytosol^[193] oder zeigen keine Homologie zu bekannten FAS-Enzymen.^[194] In Mitochondrien synthetisierte FA haben einen Effekt auf die Lipidzusammensetzung der gesamten Zelle,^[195,196] Inhibition dieses Biosyntheseweges führt jedoch auch zu spezifischen pathologischen Phänotypen wie Verlust von Cytochrom c und entsprechend Defekten in der Atmungskette.^[194] Obwohl die Mechanismen und beteiligten Enzyme gut erforscht sind, ist wenig bekannt darüber, welche Fettsäuren und zu welchem Zweck diese in Mitochondrien synthetisiert werden. Bekannt ist, dass mitochondriale FAS-Proteine essenziell für die Synthese von Liponsäure (**28**) sind.^[197] In den Mitochondrien erfolgt, ähnlich den Bakterien, die Synthese von Octanoyl-ACP, der Präkursor der Liponsäure-Biosynthese. Aus diesem entsteht, ebenfalls in den Mitochondrien, durch die Liponsäuresynthase Liponsäure (**28**). Markierte C₂-Acyl-Einheiten finden sich in Mitochondrien als Liponsäure (**28**) und schließlich in lipoylierten Proteinen wieder.^[198] In Mäusen ist Liponsäure (**28**) essenziell für die normale Entwicklung.^[199,200,201]

^e Nach dem berechneten Abgleich beider Aminosäuresequenzen werden neben den genau entsprechenden Aminosäuren („identities“, hier mit „Sequenzidentität“ beschrieben) auch Paarungen ähnlicher AS erkannt („positives“). Beispielsweise fallen hierunter Paarungen von Asparagin und Asparaginsäure, Leucin und Isoleucin oder Tyrosin und Tryptophan, also AS, die potenziell gleiche Wechselwirkungen mit einem Liganden aufweisen können.

A.4.1.3. Enoyl-ACP-Reduktase

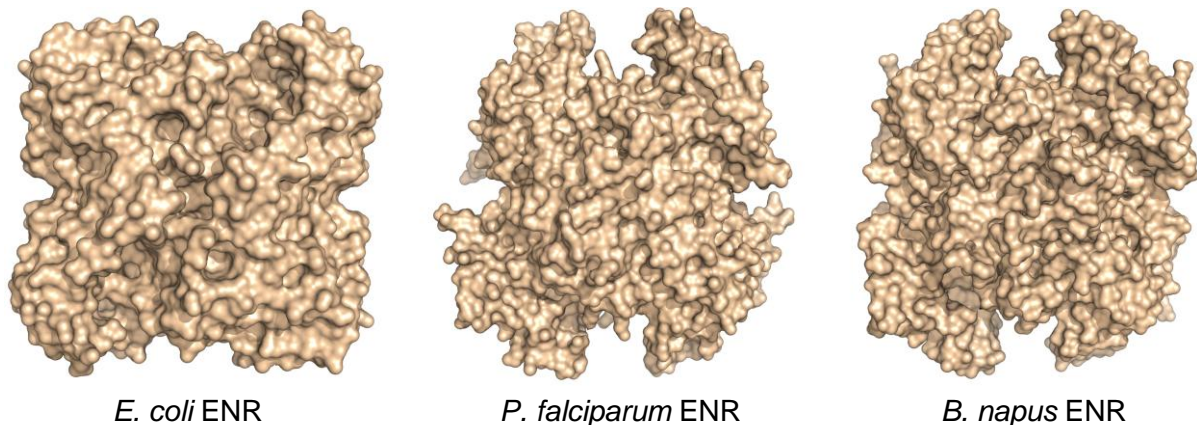


Abbildung 30: Enoyl-ACP-Reduktase-Enzyme als Tetramere von *E. coli* (PDB 1DFI^[202]), *P. falciparum* (PDB 2O2Y^[203]) und *B. napus* (PDB 1ENO^[204]). Visualisiert mit PyMOL.^[166]

Das Enzym Enoyl-ACP-Reduktase katalysiert die letzte Reaktion der zyklischen Typ II FAS, die Reduktion der Doppelbindung im *trans*-Enoyl-ACP-Intermediat, und stellt das Schlüsselenzym der FAS dar. Die Reduktion erfolgt abhängig von einem Nikotinamid-Kofaktor, wobei die Affinität zu NADH größer ist als zu NADPH.^[205] Für das ENR-Enzym wurden in zahlreichen Organismen entsprechende Gene identifiziert und in Folge rekombinant exprimiert. Die Genprodukte wurden kristallisiert oder teilweise mit verschiedenen Inhibitoren kokristallisiert und im Anschluss röntgenkristallografisch vermessen. Aus den dabei erhaltenen Diagrammen lässt sich auf die Struktur der untersuchten Proteine rückschließen, wobei die räumliche Ausrichtung einzelner Aminosäuren, Kofaktoren und anderer Liganden aufgelöst wird. Programme wie PyMOL^[166] können die gesamten Proteine oder einzelne Aminosäuren sowie Liganden visualisieren und deren Oberflächen berechnen. In Proteinkristallen wie auch in Lösung bildet die ENR aus Apicomplexa, Bakterien und Pflanzen ein Homotetramer (Abb. 31), wobei die kristallisierten, analogen Enzyme aus *E. coli*, *B. napus* und *P. falciparum* in ihrer Quartärstruktur einander weitgehend entsprechen.^[202,203,206,207]

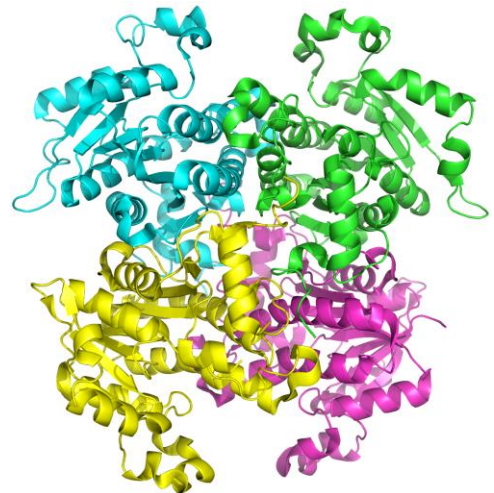


Abbildung 31. Darstellung der vier gleichen Einheiten des ENR-Tetramers aus *P. falciparum* (PDB 2O2Y^[203]). Visualisiert mit PyMOL.^[166]

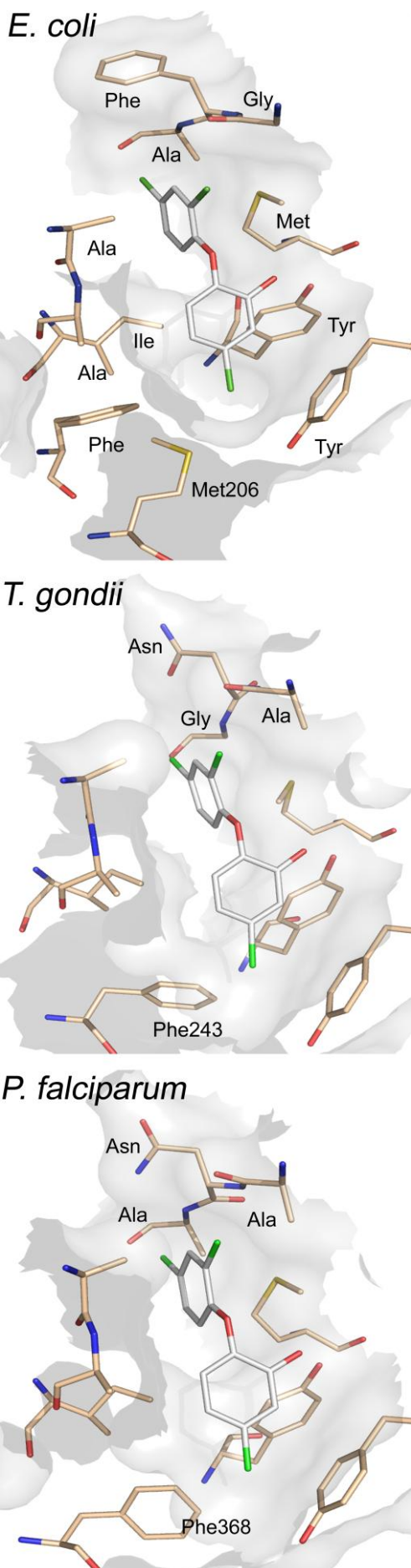


Abbildung 32: Aktive Zentren der Enoyl-ACP-Reduktase mit gebundenem Inhibitor (grau) von *E. coli* (PDB 1D8A^[210]), *T. gondii* (PDB 2O2S^[203]) und *P. falciparum* (PDB 1NHG^[207]). Die Kofaktoren wurden ausgeblendet. Visualisiert mit PyMOL.

Angeichts der unterschiedlichen Sequenzhomologie der Enoyl-ACP-Reduktase-Enzyme ist es nicht erstaunlich, dass entsprechende Enzyme der Apicomplexa strukturell eher den pflanzlichen als den bakteriellen Analoga ähneln. Die ENR-Tetramere von *T. gondii*, *P. falciparum* und *B. napus*, nicht aber das Enzym aus *E. coli* weisen eine charakteristische, tiefe Furche entlang einer ihrer Symmetrieachsen auf (Abb. 30).^[203] Die aktiven Zentren der ENR aus Pflanzen, Bakterien und auch den Apicomplexa sind weitgehend ähnlich.^[203] Die ENR-Enzyme aus *T. gondii*, *P. falciparum* und *E. coli* binden den Kofaktor (nicht gezeigt) und den synthetischen Inhibitor Triclosan (**29**) in der gleichen Konformation (Abb. 32). Dennoch unterscheiden sich einige Aminosäuren im aktiven Zentrum: Am Boden der Binde-tasche, auf den der 5-Chlorsubstituent des Triclosans (**29**) zeigt, befindet sich in der *EcENR* Methionin 206, in der *PfENR* und *TgENR* dagegen wird dieser Bereich von den sterisch anspruchsvolleren Phenylalaninresten 368 respektive 243 begrenzt. Größere, längliche Liganden, wie der Aminopyridin-Inhibitor **30** (Abb.33), von *GSK*,^[208] können daher nur an die ENR von Bakterien binden.^[203] Inhibitoren der *E. coli* ENR können sich also strukturell von Inhibitoren der *PfENR* und *TgENR* unterscheiden. Weitere Unterschiede in den Aminosäuren findet man in der Nähe der 2'- und 4'-Chlorsubstituenten. Die Bindungsstelle des Inhibitors wird hier in *Toxoplasma* von den Aminosäuren AlaAsnGly, in *Plasmodium* von AlaAsnAla und in *E. coli* von GlyPheAla be-

grenzt. Weder der polarere Asparaginrest in *Plasmodium* noch der Phenylalaninrest üben direkte Wechselwirkung auf den Triclosan-Inhibitor (**29**) aus. Größere Inhibitoren könnten jedoch durch diesen Unterschied nur eines der ENR-Enzyme binden. Gemeinsamkeiten und Unterschiede im Aufbau der Bindestelle von Triclosan (**29**) sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

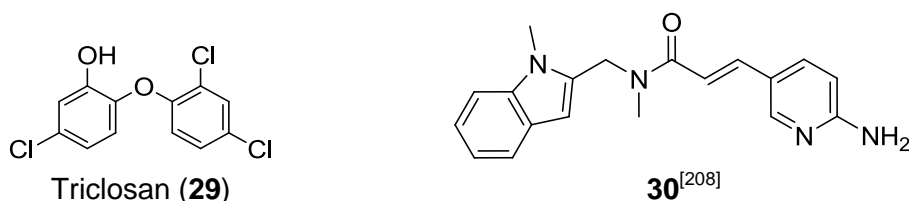


Abbildung 33: Diphenylether^[209]- und Aminopyridinderivat^[208] als Inhibitoren der bakteriellen Enoyl-ACP-Reduktase.

Die Enoyl-ACP-Reduktase-Enzyme aus *P. falciparum* und *T. gondii* weisen 47 % Sequenzidentität (63 % Ähnlichkeit) auf. Beide Enzyme sind sich in ihren aktiven Zentren sehr ähnlich und stimmen im Bindungsmodus des Kofaktors und des Inhibitors Triclosan (**29**) überein.^[203]

Tabelle 1: Aminosäuren an der Bindestelle des Inhibitors Triclosan (**29**) von Enoyl-ACP-Reduktase-Enzymen aus parasitärer und bakterieller Organismen. Nach MUENCH et al.^[203]

<i>P. falciparum</i>	Ala	Asn	Ala	-	Tyr	-	Met	-	Tyr	-	Ala	Ala	-	Ile	-	-	-	Phe
<i>T. gondii</i>	Ala	Asn	Gly	-	Tyr	-	Met	-	Tyr	-	Ala	Ala	-	Ile	-	-	-	Phe
<i>E. coli</i>	Gly	Phe	Ala	-	Tyr	-	Met	-	Tyr	-	Ala	Ala	-	Ile	-	Met	-	-

A.4.1.4. Fettsäure-Elongation

Ein weiteres System der Fettsäuresynthese in Eukaryoten ist die Fettsäure-Elongation. Durch diesen Syntheseweg werden bestehende mittelkettige und langkettige FA, wie typischerweise die C₁₄-Säure Myristat, mit CoA verestert und daraufhin weiter verlängert.^[211,212] Im Unterschied dazu werden FA durch FAS I und FAS II aus ACP-verestertem Acetat *de novo* synthetisiert. FA-Elongation erfolgt im Endoplasmatischen Retikulum, wobei die einzelnen beteiligten Enzyme membrangebunden sind. In Eukaryoten stellt die FA-Elongation die einzige Möglichkeit dar, sehr lange Fettsäuren (VLCFA) z. B. für langkettige Sphingolipide zu bilden.^[213] Der Mechanismus der FA-Elongation unterscheidet sich dabei nicht von der Typ I und Typ II FAS: Ein Verlängerungszyklus des FA-Intermediats um zwei Methyleinheiten erfolgt durch Malonyl-CoA und umfasst mit Kondensation, Reduktion, Dehydration und einer zweiten Reduktion vier aufeinander folgende Teilreaktionen an einzelnen Enzymen. Der ge-

schwindigkeitsbestimmende Schritt ist in der FA-Elongation, im Unterschied zur Reduktion durch die ENR in der Typ II FAS, die Kondensationsreaktion zu Beginn jedes Zyklus.^[214]

Enzyme dieses ersten Teilschrittes werden gewöhnlich als Elongasen (ELOs) bezeichnet, manchmal werden unter dieser Bezeichnung auch alle Enzyme der FA-Elongation zusammengefasst. In Säugetieren wurden eine *trans*-Enoyl-CoA-Reduktase,^[215] vier Hydroxyacyl-CoA-Dehydratasen,^[216] eine Ketoacyl-Reduktase^[215] und sechs Enzyme der initialen Kondensationsreaktion^[214] identifiziert.

<i>C. parvum</i>	F	L	W	T	N	D	N	Y	Y	L	A	H	T	I	C	I	I	Y	A	F	F	I	Y	F	G	P	K	I	M	E	K
<i>P. falciparum</i>	I	Q	F	V	H	N	K	Y	F	I	C	P	L	I	V	I	I	Y	L	L	F	C	K	Y	G	N	I	L	M	R	D
<i>T. gondii</i>	L	Q	W	T	V	E	R	Y	H	F	A	P	I	A	V	T	L	Y	L	L	F	C	Y	F	G	T	R	W	M	K	N
<i>H. sapiens</i>	I	Q	W	M	Q	E	N	W	K	K	S	F	L	F	S	A	L	Y	A	A	F	I	F	G	G	R	H	L	M	N	K

<i>C. parvum</i>	R	K	P	F	K	L	E	K	P	L	K	Y	W	N	L	F	L	A	L	F	S	F	I	G	T	L	R	L	M	P	Y
<i>P. falciparum</i>	K	K	A	L	N	L	K	R	T	I	S	I	W	N	F	V	L	S	F	F	N	L	L	V	T	I	K	L	Y	P	V
<i>T. gondii</i>	K	K	A	L	N	L	K	R	P	L	K	Y	W	N	L	F	L	A	I	F	S	F	M	G	M	I	R	V	V	P	H
<i>H. sapiens</i>	R	A	K	F	E	L	R	K	P	L	V	L	W	S	L	T	L	A	V	F	S	I	F	G	A	L	R	T	G	A	Y

<i>C. parvum</i>	V	L	T	N	L	I	K	Y	G	F	V	S	S	I	C	(6)	L	T	K	G	P	A	G	-	L	W	L	S	L	F	I
<i>P. falciparum</i>	L	I	Y	I	I	Y	H	Y	S	L	T	G	L	L	I	(6)	C	G	F	G	T	V	G	-	L	W	I	C	F	F	I
<i>T. gondii</i>	L	F	E	I	L	R	R	W	G	F	E	V	S	I	C	(6)	Y	G	H	G	A	S	G	-	L	W	I	F	L	F	I
<i>H. sapiens</i>	M	V	Y	I	L	M	T	K	G	L	K	Q	S	V	C	(3)	F	Y	N	G	P	V	S	K	F	W	A	Y	A	F	V

<i>C. parvum</i>	Y	S	K	Y	I	E	L	I	D	T	F	F	I	I	A	R	K	K	S	L	S	F	L	H	W	F	H	H	L	T	V
<i>P. falciparum</i>	I	S	K	Y	F	E	L	I	D	T	L	F	L	I	L	K	K	K	E	I	T	F	L	H	W	F	H	H	S	T	V
<i>T. gondii</i>	Y	S	K	Y	F	E	L	I	D	T	L	F	L	I	L	K	K	K	E	I	T	F	L	H	W	Y	H	H	A	T	V
<i>H. sapiens</i>	L	S	K	A	P	E	L	G	D	T	I	F	I	I	L	R	K	Q	K	L	I	F	L	H	W	Y	H	H	I	T	V

<i>C. parvum</i>	L	L	Y	T	W	D	A	Y	V	C	C	Q	T	I	G	V	F	F	C	A	I	N	Y	F	V	H	S	I	M	Y	F
<i>P. falciparum</i>	L	L	Y	T	W	D	T	Y	Y	E	E	I	P	V	G	F	I	F	I	C	I	N	A	F	V	H	S	I	M	Y	F
<i>T. gondii</i>	L	L	Y	T	W	D	G	Y	C	V	E	Q	P	A	G	I	Y	F	V	A	M	N	Y	S	V	H	A	I	M	Y	F
<i>H. sapiens</i>	L	L	Y	S	W	Y	S	Y	K	D	M	V	A	G	G	G	W	F	M	T	M	N	Y	G	V	H	A	V	M	Y	S

<i>C. parvum</i>	Y	Y	Y	L	S	S	C	G	K	R	P	-	-	K	W	G	M	I	I	T	I	L	Q	I	V	Q	M	I	I	G	T
<i>P. falciparum</i>	Y	Y	F	L	A	S	C	Y	N	K	K	-	F	K	W	S	I	I	V	T	L	I	Q	I	C	Q	M	F	L	G	V
<i>T. gondii</i>	Y	Y	F	L	A	A	Q	L	Q	R	P	-	L	P	W	G	I	F	V	T	I	A	Q	I	S	Q	M	F	V	G	M
<i>H. sapiens</i>	Y	Y	A	L	R	A	A	G	F	R	V	S	R	K	F	A	M	F	I	T	L	S	Q	I	T	Q	M	L	M	G	C

<i>C. parvum</i>	I	L	T	T	S	G	M	Y	Y	S	Y	K	(18)	G	C	H	F	I	R	T	N	G	V	F	A	C	L	M	Y	I	S
<i>P. falciparum</i>	L	L	T	S	Y	C	L	Y	I	S	Y	I	(23)	G	H	Y	I	S	R	K	N	I	I	L	A	S	L	M	Y	I	S
<i>T. gondii</i>	G	V	T	C	V	S	L	Y	Y	S	F	A	(18)	G	Q	Y	I	S	A	R	N	L	V	Y	G	L	L	M	Y	S	T
<i>H. sapiens</i>	V	V	N										(10)	Q	C	H	S	H	F	Q	N	I	F	W	S	S	L	M	Y	L	S

<i>C. parvum</i>	Y	F	A	L	F	F	D	F	F	I	K	R	Y	I	T	K															
<i>P. falciparum</i>	Y	L	Y	L	F	I	N	Y	F	F	H	R	Y	I	I	S															
<i>T. gondii</i>	Y	L	Y	L	F	I	N	Y	F	F	K	R	Y	V	S	K															
<i>H. sapiens</i>	Y	L	V	L	F	C	H	F	F	F	E	A	Y	I	G	K															

Abbildung 34: Aminosäuresequenzen der Enoyl-CoA-Reduktase-Enzyme aus *C. parvum*, *P. falciparum*, *T. gondii* und *H. sapiens*. Grün: Übereinstimmung bei allen vier Organismen. Hellgrün: Übereinstimmung bei den Apicomplexa. Nach FRITZLER et al.^[217]

Häufig finden sich in einem Organismus mehrere Elongasen, die den gleichen Reaktionstyp katalysieren. Die einzelnen Enzyme zeigen jedoch eine jeweils unterschiedliche Substratspezifität hinsichtlich Länge und Sättigungsgrad der Alkylkette ihres Substrats.

2006 zeigten LEE et al.^[218] am Beispiel von *Trypanosoma*, dass die Fettsäuresynthese in einem Organismus fast ausschließlich auf der Fettsäure-Elongation beruhen kann. Trypanosomen besitzen mit ELO1-ELO3 drei ELOs, die sich jeweils darin unterscheiden, wie effektiv sie verschieden lange Fettsäuren umsetzen. Die drei Enzyme zeigen jeweils ihre maximale Effektivität, wenn sie „Acyl-CoA Primer“^[218] mit einer Alkylkette von C₄-C₁₀, C₁₀-C₁₄ und C₁₄-C₁₈ binden. Zusätzlich wurde eine *trans*-Enoyl-CoA-Reduktase identifiziert.^[218] Die Erkenntnisse von LEE et al.^[218] sind aus zwei Gründen wertvoll für das Verständnis, wie parasitäre Organismen FA erwerben: Anders als die Organismen, in denen bisher Fettsäure-Elongation beschrieben wurde, können Trypanosomen offenbar auch ungewöhnlich kurze „Acyl-Primer“ verlängern. Obwohl in *Trypanosoma* vorhanden, scheint es dadurch für die Typ II FAS keinen Bedarf zu geben. Des Weiteren stellt *Trypanosoma* den ersten Parasiten überhaupt dar, in dem ein Fettsäure-Elongationssystem charakterisiert wurde.

Auch in den Apicomplexa *Plasmodium* und *Toxoplasma* wurde die Existenz eines weiteren Fettsäure-Biosyntheseweg neben der FAS II bewiesen. YU et al.^[162] zeigten 2008, dass kultivierte erythrozytäre *P. falciparum* und *berghei* Erreger, die durch eine genetische Veränderung das FAS II-Enzym FabI nicht mehr bilden konnten, weiter langkettige FA aus Acetat synthetisieren. Plasmodien sind also anscheinend nicht auf das FAS II System angewiesen, um FA *de novo* zu synthetisieren. Im Genom der Malariaparasiten finden sich Sequenzen mit Homologie zu drei aus anderen Organismen bekannten ELOs. Die Aminosäuresequenz eines der drei Enzyme zeigt hohe Homologie zur ELO aus *Cryptosporidium parvum*, das ebenfalls zu den Apicomplexa gehört. Gleichzeitig weist sie Sequenzidentität zu einer ELO aus *T. gondii* und *H. sapiens* auf.^[217] Die entsprechenden gepaarten Aminosäuresequenzen für die aus dem jeweiligen Genom von *P. falciparum*, *T. gondii*, und *H. sapiens* heraus angenommenen homologen ELO-Proteine sind in Abbildung 34 nach FRITZLER et al.^[217] dargestellt.

RAMAKRISHNAN et al.^[219] zeigten 2011, dass Toxoplasmoserregere, die FA nicht mehr über FAS II bilden können, aus markierten Präkursoren weiterhin FA, darunter VLCFA synthetisieren. *Toxoplasma* besitzt drei Gene für mögliche ELOs und jeweils ein Gen für die übrigen Enzyme der FA-Elongase. Diese Gene wurden rekombinant exprimiert und die angenommene Identität der meisten Enzyme bewiesen.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass, obwohl für *Plasmodium* bis heute keine Enzyme der FA-Elongation charakterisiert sind, die Existenz entsprechender Gensequenzen und die Erkenntnisse aus anderen Apicomplexa stark auf einen solchen Biosyntheseweg hindeuten.

A.5. Typ II FAS-Inhibitoren als Wirkstoffe gegen Apicomplexa

Das Interesse der Forschung an Genom, Stoffwechselwegen und einzelnen Enzymen pathogener Organismen hat in den meisten Fällen einen pragmatischen Grund: Das rationale Wirkstoffdesign orientiert sich an bekannten molekularen Zielstrukturen, um neue potenzielle Therapeutika zu finden. Wird ein Stoffwechselweg im Erreger charakterisiert, stellt sich daher, vom Standpunkt der Wirkstoffentwicklung betrachtet, letztendlich immer die Frage: Ist der Biosyntheseweg essenziell für das Pathogen? Eine eindeutige Antwort darauf geben Experimente, in denen das Gen für ein entsprechendes Enzym durch genetische Veränderung „ausgeschaltet“ wird (Gen-*knockout*), oder entsprechende Transkriptionsprodukte durch kleine, synthetische Moleküle gebunden bzw. abgebaut werden (*antisense* respektive RNA Interferenz). Beide Experimente stellen gängige Methoden dar, um zu verhindern, dass ein fragliches Protein in einem Organismus gebildet wird und um den dazugehörigen Stoffwechselweg zu unterbrechen. In der Folge untersucht man den Organismus nach phänotypischen Defekten und Veränderungen von Infektiosität sowie Lebensfähigkeit. Ist der Organismus in diesen Eigenschaften derart eingeschränkt, dass er Lebensfähigkeit oder Pathogenität verliert, gilt der Stoffwechselweg als essenziell und somit als potenzielles Wirkstoff-*target*.

A.5.1. Typ II FAS als *drug target* in *Plasmodium*

Als ein solches *target* für potenzielle Wirkstoffe gegen Malaria wird die Typ II Fettsäuresynthese der Apicomplexa seit ihrer Entdeckung 1998 im Apikoplasten^[182] diskutiert. Für *Plasmodium* galt bis dahin die Aufnahme aus dem Serum oder aus Lipoproteinen des Wirtes als einzige Möglichkeit FA zu gewinnen.^[142] Im Folgenden konnte gezeigt werden, dass intraerythrozytär kultivierte *P. falciparum* Acetat aufnehmen, um es zur *de novo* Synthese von FA zu verwenden.^[162,220] Wurden Plasmodien im Blutstadium jedoch dem bekannten FAS-Inhibitor Triclosan^f (**29**) ausgesetzt, verloren die Parasiten offenbar die Fähigkeit FA zu synthetisieren und wurden gleichzeitig in ihrem Wachstum gehemmt.^[220,221] Da Triclosan (**29**) auch eine stark hemmende Wirkung auf das FAS-Enzym ENR der Plasmodien hat, lag es nahe, die plasmodiale FAS als essenziell für den Entwicklungszyklus in Erythrozyten zu betrachten.

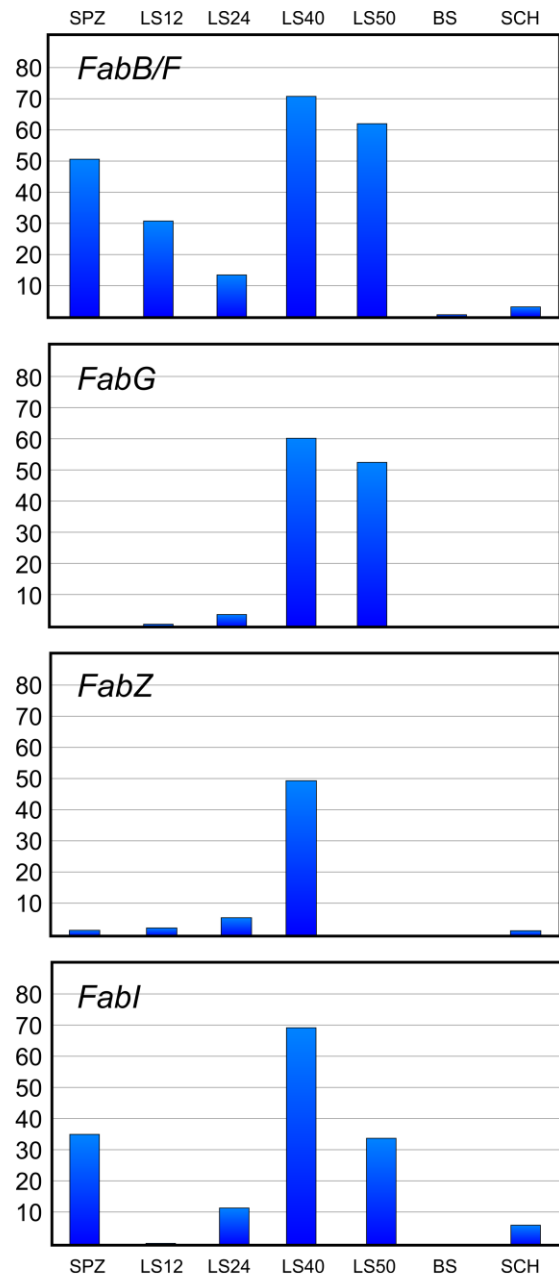
^f Der ENR Inhibitor und antiplasmodiale Wirkstoff Triclosan wird im Folgenden beschrieben.

Abbildung 35: Expression der einzelnen *Pffab*-Gene in den einzelnen Entwicklungsstadien. SPZ: Sporozoiten in der Speicheldrüse von *Anopheles*. LS12-LS50 Leberstadium zum Zeitpunkt 12 h p. I. bis 50 h p. I. BS: Blutstadium. SCH: Schizont im Blutstadium. Nach VAUGHAN et al.^[163]

Weitere Experimente mit unterschiedlichen ENR-Inhibitoren ließen daran jedoch schon bald Zweifel aufkommen.^[222,223,224,225] Schließlich wurde 2008 festgestellt, dass genetisch veränderte *P. falciparum*, die nicht mehr zur Typ II FAS fähig sind, ihren intraerythrozytären Entwicklungszyklus ohne Einschränkung vollziehen.^[162] Infektion von Mäusen mit *FabI*-knockout ($\Delta FabI$)-*P. berghei*^[162] sowie Infektion mit $\Delta FabB/F$ oder $\Delta FabZ$ *P. yoelii*^[163] führt zur Erkrankung mit unveränderter Parasitämie. Als man später das Transkriptionsprofil der *Fab*-Gene untersuchte, wurde deutlich, dass FAS II-Proteine zu keinem Zeitpunkt des intraerythrozytären Entwicklungsstadiums nennenswert bzw. messbar exprimiert werden (Abb. 35).^[163] Nur wenn Plasmodien ihren Stoffwechsel bei Unterversorgung mit Nährstoffen in einen „Hungermodus“ umstellen, wurde die Transkription der *Fab*-Gene nachgewiesen.^[226] Typ II FAS in *Plasmodium* ist nach diesen Ergebnissen im Blutstadium weder

für die Vermehrung noch für die Infektiosität essenziell und stellt kein valides *target* für potenzielle Wirkstoffe zur Anwendung bei symptomatischer Malaria dar.

In *Anopheles* entwickeln sich Plasmodien ohne *FabZ*, *FabF* oder *FabI*-Gen normal zu motilen Sporozoiten, die schließlich auch in die Speicheldrüse der Mücke einwandern.^[163] *De novo* FAS ist offensichtlich auch für dieses Entwicklungsstadium nicht essenziell. Diese veränderten Sporozoiten sind unverändert infektiös für Hepatozyten, obwohl bei Plasmodien vom Wildtyp in diesem Stadium *FabF* und *FabI*-Gene hochreguliert, also ausgiebig exprimiert werden (Abb. 35).^[163] Offensichtlich lässt sich aber aus der erhöhten Expression einzelner *Fab*-Gene nicht schließen, dass diese oder *de novo* FAS im jeweiligen untersuchten Entwicklungsstadium für die Lebensfähigkeit bzw. Infektiosität von *Plasmodium* unentbehrlich ist.



Während der Entwicklung des Malariaparasiten im Hepatozyten, die dem Blutstadium und damit der Malariaerkrankung vorausgeht, wird bis etwa 40 h nach Infektion (p. I.) durch die Sporozoiten zunächst keines der *PfFab*-Gene nennenswert exprimiert. Im späteren Leberstadium ändert sich jedoch das Transkriptionsmuster und die Expression jedes der vier Gene der zyklischen FAS II (*FabB/F*, *FabG*, *FabZ* und *FabI*) ist hochreguliert (Abb. 35).^[163] Passend zu diesen Ergebnissen bilden $\Delta FabF$ Sporozoiten von *Plasmodium yoelii*^[163] und $\Delta FabI$ Sporozoiten von *P. berghei*^[162] nach Invasion in den Hepatozyten zunächst in ihrer Anzahl und in der Größe unauffällige Trophozoiten. In der späten Entwicklungsphase, ab etwa 40 h p. I. scheint jedoch ein intakter Typ II FAS Stoffwechsel für Plasmodien unentbehrlich zu sein.^[162,163] Zu diesem Zeitpunkt beginnt der Lebertrophozoit mehrere Hundert zusammenhängende Segmente zu bilden, wobei $\Delta FabB/F$ Trophozoiten hier deutlich kleiner als der Wildtyp sind und einen defekten Phänotyp zeigen.^[163] Interessanterweise fehlt in $\Delta FabB/F$ und $\Delta FabI$ Leberschizonten im Unterschied zum Wildtyp fast immer das MSP-1, ein Oberflächenmolekül in der Plasmamembran des Parasiten. Dieses Protein ist mit einem GPI-Anker mit der Plasmamembran verbunden (Abb. 22), für dessen Synthese der Parasit, wie schon beschrieben, Fettsäuren benötigt.

Insgesamt lassen diese Ergebnisse darauf schließen, dass FAS-defekte Plasmodien das präerythrozytäre Entwicklungsstadium nicht vollenden können, und es ist unwahrscheinlich, dass sie den Wirt an Malaria erkranken lassen. Tatsächlich konnten VAUGHAN et al.^[163] zeigen, dass Mäuse weder nach Injektionen mit 50.000 $\Delta FabB/F$ noch $\Delta FabZ$ Sporozoiten eine Malariaerkrankung entwickeln. Das späte Leberstadium ist demnach der einzige Zeitpunkt, in dem Plasmodien auf Typ II FAS angewiesen sind. Gleichzeitig geben diese Ergebnisse Hoffnung, dass potenzielle Wirkstoffe, die als FAS II-Inhibitoren agieren, zur echten kausalen Chemoprophylaxe verwendet werden können. Ein derartiger prophylaktisch verabreichter Wirkstoff könnte eine patente Infektion und damit auch die typischen Symptome verhindern. Da die Malariaerreger in einem solchen Fall nie das Blutstadium erreichen, wäre auch eine Übertragung der Krankheit über den Vektor *Anopheles* nicht möglich.

A.5.2. Typ II FAS als *drug target* in *Toxoplasma*

Intrazelluläre Tachyzoiten von *T. gondii* synthetisieren FA von unterschiedlicher Länge (C₁₄ bis C₂₁) *de novo*.^[219] Ihr Anteil an der Gesamtheit der Fettsäuren in der Wirtszelle ist abhängig von ihrer Kettenlänge: Deutlich über 50 % der C₁₄- und C₁₆-Säuren stammen aus der *de*

de novo FAS im Apikoplasten des Parasiten.^[219] Intrazelluläre Tachyzoiten synthetisieren offenbar einen großen Teil der benötigten Lipide selbst.

Hierfür stehen *T. gondii* drei unterschiedliche Biosynthesewege zur Verfügung: Der Parasit kann FA durch Typ II FAS im Apikoplasten synthetisieren,^[182] zusätzlich aber auch durch ein FAS I-Enzym und FA-Elongation.^[219] Das für die *de novo* FAS benötigte Acetat nimmt *T. gondii* weniger vom Wirt auf, sondern gewinnt es durch den Abbau aufgenommener Glukose. Die hieraus synthetisierten Fettsäuren werden vom Parasit zur Herstellung von Glycero-phospho- und Sphingolipiden verwendet.^[227,228] Behandelt man die Parasiten *in vitro*, mit einem Herbizid, das Enzyme der Typ II Fettsäuresynthese sowohl von Pflanzen wie auch von *Toxoplasma*^[229] inhibiert, wird dadurch die Bildung der Lipide beeinflusst.^[227] Dieses Ergebnis deutet auf eine Beteiligung der Typ II FAS bei der Lipidsynthese von *Toxoplasma*.

Um sich als *target* für eine potenzielle Therapie zu eignen, muss der entsprechende Biosyntheseweg jedoch für *T. gondii* essenziell sein. Einen Hinweis hierauf liefern Experimente mit den schon beschriebenen Herbiziden vom Aryloxyphenoxypropionat Typ, die als Inhibitoren des pflanzlichen Typ II FAS-Enzyms Acetyl-CoA-Carboxylase wirken. Derartige Herbizide (Abb. 36) hemmen nicht nur das analoge Enzym in *T. gondii*, sondern auch in starker Korrelation^[229] das Wachstum des Parasiten *in vitro*.

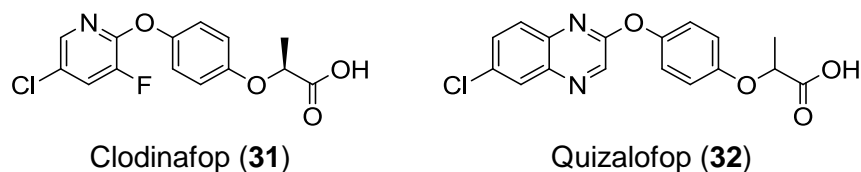


Abbildung 36: Herbizide vom Aryloxyphenoxypropionat Typ.

MAZUMDAR et al.^[228] untersuchten die Bedeutung des FAS II Stoffwechselweges für den Parasiten an ACP-*knockout* (Δ ACP)-*T. gondii*. Wie schon beschrieben, ist das *Acyl-Carrier-Protein* ein zentrales Element der Typ II FAS, da es FA-Intermediate während ihres Aufbaus auf die einzelnen FAS-Enzyme überträgt. Das ACP ist nukleär kodiert, wird jedoch ausschließlich in den Apikoplasten überführt.^[182,230] Δ ACP *T. gondii* zeigen Defekte im Apikoplasten und ein Fehlen von Liponsäure (28) in sonst lipoylierten Enzymen. Diese Defekte lassen sich auch durch Gabe von C₁₄- und C₁₆-Säuren nicht verhindern. Offensichtlich kann *T. gondii* seinen Bedarf an FA nicht ausschließlich aus dem Plasma des Wirts bzw. aus der Wirtszelle decken. Möglicherweise ist der Transport in die Vakuole des Parasiten nicht ausreichend, der Bedarf an FA zu hoch, oder es fehlen wichtige Intermediate der FAS II wie Octanoyl-ACP.^[219] *In vitro* sind diese Parasiten deutlich in ihrer Vermehrung eingeschränkt und

lassen *in vivo* infizierte Mäuse nicht erkranken. Insgesamt scheint die FAS im Apikoplasten des Parasiten für Vermehrung und Infektiosität von *T. gondii* essenziell zu sein.^[228]

Trotz des Verlusts des ACP, und somit der Fähigkeit zur Typ II FAS, synthetisiert *Toxoplasma* jedoch weiterhin langkettige Fettsäuren aus aufgenommenen Acetat.^[228] Es werden jedoch deutlich weniger FA mit einer Kettenlänge bis zu C₁₈ gebildet.^[219] Die FA entstehen wahrscheinlich über alternative Biosynthesewege wie die Typ I FAS oder Fettsäureelongation. Durch Fettsäureelongation synthetisiert der Parasit VLCFA wie ungesättigte C₂₆-Säuren, die nicht vom Wirt gewonnen werden können.^[219] *T. gondii* besitzt Gene für drei Elongasen (ELO-A bis -C), zwei Reduktasen und eine Dehydratase. Diese Proteine wurden exprimiert, ihre Funktion bestätigt und ihre Bedeutung für *T. gondii* in *knockout*-Parasiten untersucht. Das Produkt der Elongasen sind offenbar vor allem einfach ungesättigte Fettsäuren, wobei die einzelnen Enzyme eine besonders hohe Aktivität zeigen, wenn sie Fettsäuren einer bestimmten Länge umsetzen. Aus diesem Grund erfolgt die Synthese von VLCFA wahrscheinlich sequenziell durch die drei Enzyme.^[219]

Das Fehlen jeweils einer der drei Elongasen hat keine Auswirkung auf das Wachstum des Parasiten. Entweder die Funktion der einzelnen ELOs ist redundant, oder der Parasit kann lange FA im ausreichenden Maß vom Wirt gewinnen. Es ist nicht gelungen, eine *knockout*-Linie zu erzeugen, in der sich mehrere ELO-Gene, die Dehydratase oder die Enoyl-CoA-Reduktase ausschalten lassen. Diese negativen Ergebnisse könnten darauf hindeuten, dass der Fettsäure-Elongations-Stoffwechselweg essenziell für *T. gondii* ist.^[219]

A.5.3. Inhibitoren der Typ II FAS in Protozoen

Seit der Entdeckung der Typ II FAS-Enzyme im Apikoplasten von Apicomplexa wie *Plasmodium* und *Toxoplasma*^[182] beschäftigt sich die Wirkstoffentwicklung mit diesem potenziellen Angriffspunkt einer antiinfektiven Therapie. Insbesondere nachdem SUROLIA und SUROLIA^[220] 2001 berichteten, der ENR-Inhibitor Triclosan (**29**) könne infizierte Mäuse von der Malariaerkrankung heilen, rückte die Typ II FAS in den Fokus von Forschungsprojekten.^[231] Durch Erfolge mit FAS-Inhibitoren bei bakteriellen Infektionen, inklusive der Tuberkulose, hoffte man durch derartige Wirkstoffe, ähnlich wie mit Antibiotika, analoge prokaryotische Zielstrukturen in *Plasmodium* und anderen Apicomplexa zu hemmen. Zu diesem Zweck wurden von mehreren Organisationen, darunter *Genzyme* und *GlaxoSmithKline*, FAS-Inhibitoren gegen Malaria und andere Infektionskrankheiten entwickelt.^[222,223,225,232] Hauptsächlich handelt es sich dabei um Derivate von Triclosan (**29**).

A.5.3.1. *Triclosan und Analoga*

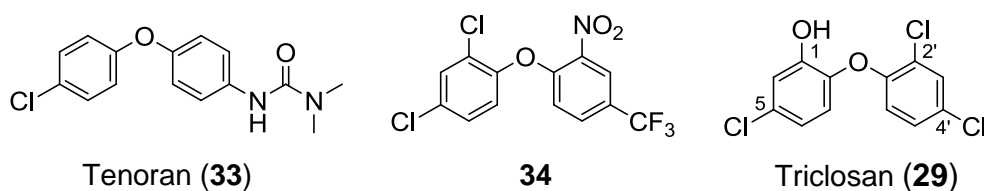


Abbildung 37: Patentierte Herbizide^[233,234] und Triclosan (alle *Ciba*).

Triclosan (**29**), 5-Chlor-2-(2,4-dichlorphenoxy)phenol, wurde in den 1960er Jahren von *Ciba* (heute *BASF*) als breitwirksames Biozid^[235] entwickelt und enthält dieselbe Diphenyletherpartialstruktur wie zuvor 1960^[234] und 1962^[233] von *Ciba* patentierte Herbizide (Abb. 37). Unter dem Namen Irgasan DP300 (*Ciba*) ist es eines der weit verbreitetsten antimikrobiellen und antifungalen Additive sowie Konservierungsmittel in einer Vielzahl von Hygieneprodukten, Dermatika und Kosmetika.

Galt die Wirkung von Triclosan (**29**) lange als unspezifisch gegen die Zellmembran von Mikroorganismen gerichtet, wurde 1998 erstmalig die Enoyl-ACP-Reduktase als Zielstruktur in *E. coli* postuliert. Es konnte gezeigt werden, dass Triclosan (**29**) die Fettsäuresynthese in *E. coli* hemmt und Mutationen oder Überexpression der *EcENR* zu einem Wirkverlust führen.^[236] Bereits 1999 veröffentlichten drei Arbeitsgruppen die gelöste Kristallstruktur der *E. coli* ENR und dem neu dafür entdeckten Liganden:^[237,238,239] Triclosan (**29**) bindet in Nachbarschaft der Nikotinamidpartialstruktur des Kofaktors unter Ausbildung von π - π -Stapelwechselwirkung. Die phenolische OH-Gruppe des Triclosans (**29**) bildet Wasserstoffbrücken zur 2'-OH-Funktion der Ribosepartialstruktur und zum Sauerstoff der phenolischen OH-Gruppe des Tyrosins 156^[239] (Abb. 38).

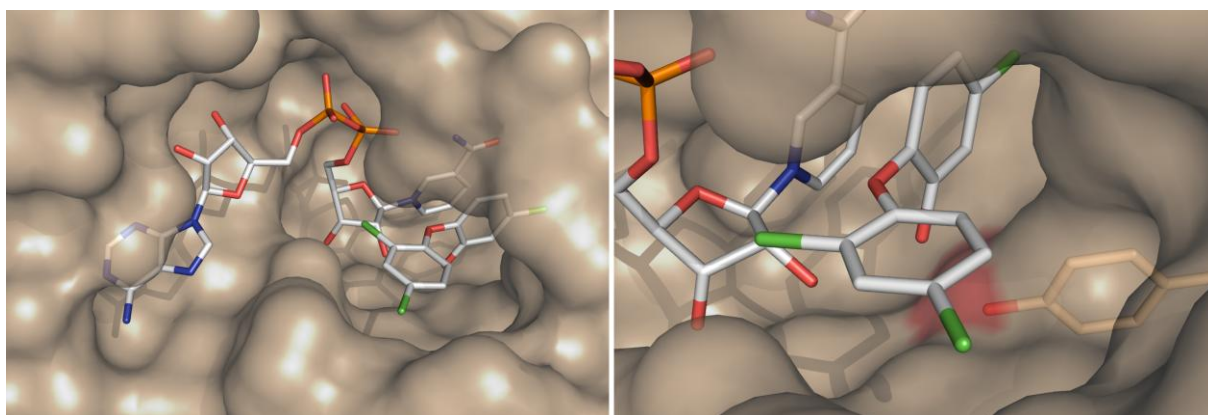


Abbildung 38: Triclosan bindet an die *E. coli* ENR. PDB 1D8A.^[239] Visualisierung: PyMOL.^[166]

2001 wurde festgestellt, dass Triclosan (**29**) ebenfalls die ENR von *Plasmodium falciparum* und *Toxoplasma gondii* inhibiert.^[220,221] Der Bindungsmodus des Diphenyletherderivats am

aktiven Zentrum der *Ec*ENR, *Pf*ENR und *Tg*ENR ist sehr ähnlich und im Falle der Enzyme aus den beiden Apicomplexa fast identisch^[203] (vergl. A.4.1.3. und Abb. 32). Die Wirkung am ENR-Enzym machte man, damals noch in der Annahme, die plastidäre Fettsäuresynthese sei essenziell für das intraerythrozytäre Wachstum für Plasmodien, für den inhibitorischen Effekt auf solche Parasiten verantwortlich. Zweifel kamen an diesem Zusammenhang auf, als eine große Zahl an Triclosanderivaten synthetisiert und getestet wurde.

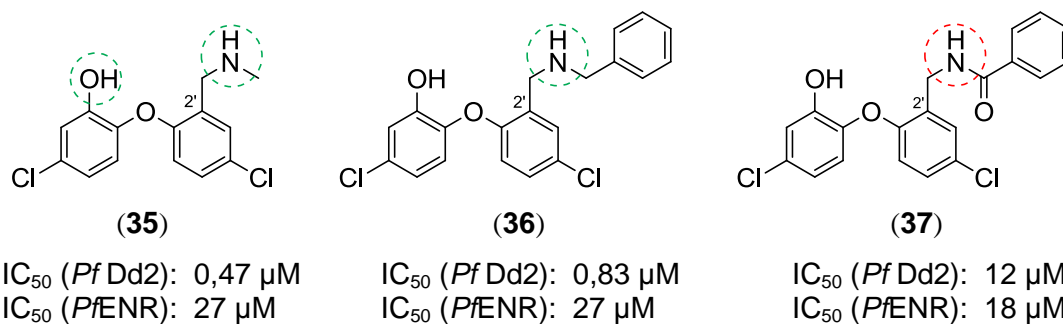


Abbildung 39: 2'-substituierte Triclosanderivate von YU et al.^[162] *Pf* Dd2: *P. falciparum*, Dd2-Stamm. Triclosan *Pf* Dd2 IC_{50} : 3,8 μ M. *Pf*ENR IC_{50} : 73 nM.

Triclosan-Analoga machen den deutlich größten Teil der FAS II-Inhibitoren als Wirkstoffe gegen Apicomplexa aus. Die meisten dieser Verbindungen wurden von FREUNDLICH et al.^[222,223,225] synthetisiert und getestet. Die strukturellen Modifikationen führten teilweise zum Erfolg: Substitution der 2'-Position (Abb. 39) durch eine Mannich-Base-Partialstruktur bewirkt eine deutlich gesteigerte Aktivität gegen Plasmodien im Blutstadium. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die phenolische OH-Gruppe essenziell für die Wirkung gegen Plasmodien ist. Substitution in der 5-Position (Abb. 40) hingegen führen zu einer gewissen Wirkungssteigerung gegen das isolierte *Pf*ENR-Enzym.

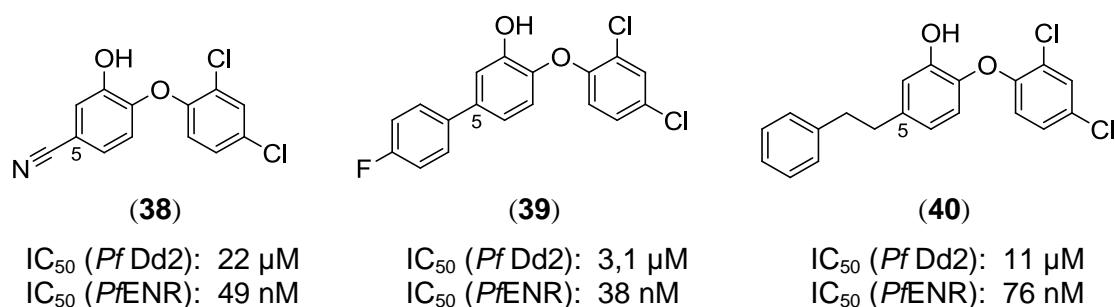


Abbildung 40 Ausgewählte Triclosan-Analoga. Triclosan *Pf* Dd2 IC_{50} : 3,8 μ M. *Pf*ENR IC_{50} : 73 nM.

Für die in Enzym- und Zell-Assay gemessenen Werte der Triclosanderivate konnte jedoch kaum eine Korrelation gefunden werden. Darauf angestellte Versuche an Zelllinien von *P. falciparum*, die eine Triclosan-insensitive ENR exprimieren, zeigten, dass die blutschizontozide Wirkung von Triclosan (29) dadurch nicht beeinflusst wird.^[162] Die Wirkung von Tric-

losan (**29**) gegen erythrozytäre Formen beruht also nicht auf seiner potenten Inhibition der ENR. Wahrscheinlich sind zusätzlich andere Zielstrukturen das Ziel des Diphenyletherderivats. Das Wachstum von *Trypanosoma brucei* z. B. wird von Triclosan (**29**) mit einer IC_{50} von etwa $10\ \mu M$ ^[240] gehemmt. Die Synthese von Fettsäuren im zellfreien Assay wird von dem Wirkstoff jedoch nur in zehnfach höherer Konzentration inhibiert. Gleichzeitig bewirkt der Wirkstoff bereits in deutlich niedrigeren Konzentrationen, dass weniger GPI-Anker gebildet werden, an denen C_{14} -Säuren gebunden sind.^[240] Ein weiteres *target* von Triclosan (**29**) findet sich im Bakterium *Bacillus subtilis*. Dieser Organismus enthält eine zweite Enoyl-Reduktase, die nur eine moderate Homologie zu FabI aufweist, genauso essenziell für das Bakterium ist und durch Triclosan (**29**) inhibiert wird.^[241]

Für ausgewählte hochaffine Liganden mit großem hydrophoben 5-Substituenten wurde von FREUNDLICH et al.^[225] Ko-Kristallstrukturen mit dem PfENR-Enzym gelöst. Demnach bindet das Phenethylderivat **40** zusätzlich in einer hydrophoben Bindetasche, die durch ein Phenylalanin und Isoleucin gebildet wird. Der Rest des Phenylalanins 285 (Phe285) nimmt bei großen Substituenten eine andere Konformation ein (*induced fit* Mechanismus) als etwa in Ko-Kristallstrukturen mit Triclosan (**29**) und vergrößert so die Bindetasche (Abb. 41). Diese Kristallstrukturen sind für die Entwicklung von strukturell neuartigen ENR-Inhibitoren besonders wertvoll, denn sie erlauben die Erstellung größerer Pharmakophormodelle, die einen Bereich über die Triclosan-Bindestellen hinaus nutzen.

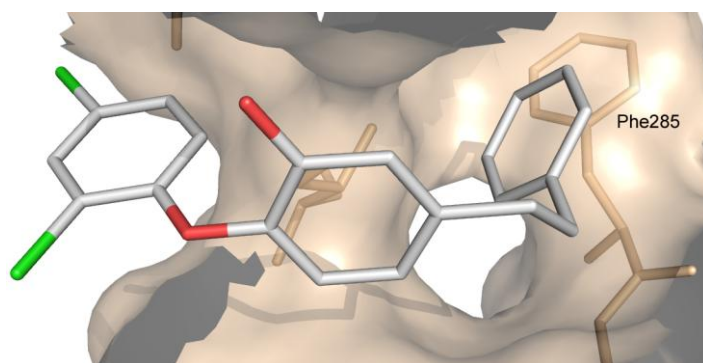


Abbildung 41: Ein 5-Phenethylderivat des Triclosans (**29**) bindet an die PfENR. Teile der Bindetasche sind ausgeblendet. PDB 2OOS.^[225]

Triclosan (**29**) hemmt das Wachstum von *P. falciparum* in niedriger micromolarer Konzentration^g. Als potenzielles Therapeutikum ist der Wirkstoff besonders attraktiv, da er seit Jahrzehnten exzessiv im privaten Bereich sowie in medizinischen Produkten eingesetzt wird, ohne dass gravierende Nebenwirkungen oder Unverträglichkeiten berichtet wurden. Innerhalb der

^g Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine IC_{50} von $3,3\ \mu M$ am Dd2 Stamm von *P. falciparum* gemessen. Freundlich et al.^[222] messen am selben Stamm $3,8\ \mu M$

EU ist die Produktion von mehreren hundert Tonnen pro Jahr bereits etabliert.^[242] Umso größeres Interesse löste 2001 der Bericht von SUROLIA und SUROLIA^[220] aus, mit *P. berghei* infizierte Mäuse könnten zu 100 % mit Triclosan (**29**) geheilt werden. In folgenden Versuchen gelang es jedoch nicht, diese Ergebnisse zu reproduzieren. Bei der maximal vom Versuchstier tolerierten Dosis, mehr als dem Dreifachen der von SUROLIA und SUROLIA für eine Heilung von 100 % der Versuchstiere beschriebenen Dosis, gelang bestenfalls eine Heilungsrate von 47 %.^[243]

YU^[162] et al. zeigten, dass die ENR, das einzige bekannte *target* von Triclosan (**29**) in *Plasmodium spp.*, im späten Leberstadium des Erregers essenziell ist. Daher sollte der Wirkstoff hier eine messbare Wirkung zeigen. Tatsächlich hemmt Triclosan (**29**) in hohen micromolaren Konzentrationen die Entwicklung von *P. berghei* in menschlichen Leberkarzinomzellen. Werden infizierte Zellen mit Triclosan (**29**) in einer Konzentration von 100 µM behandelt, wird die Größe von Leberschizonten um den Faktor fünf reduziert, bei einer Konzentration von 10 µM etwa um den Faktor 1,4. Die halbmaximale Zytotoxizität gegenüber der epithelartigen Leberkarzinomzelllinie HepG2 wurde in der gleichen Veröffentlichung mit 2 mM angegeben.^[244] Dieser Wert übertrifft den im Rahmen dieser Arbeit an HeLa-Zellen gemessenen Wert^h um das mehr als 60-fache und ist auch mit anderen Literaturwerten nicht kongruent:

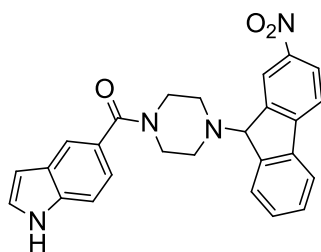
Triclosan (**29**) wirkt zytotoxisch auf Epithelzellen des Zahnfleisches mit halbmaximaler Toxizität bei 50-60 µM,^[245,246] die akute systemische Toxizität und das allergene Potenzial für Säugetiere sind dagegen niedrig.^[247,248] Der Wirkstoff hat außerordentlich hydrophoben Charakter, der sich in einer schlechten Wasserlöslichkeit widerspiegelt. Dies ist wahrscheinlich der Grund für die stark variierende Absorption von 24-83 %^[249] im Menschen nach oraler Gabe. Triclosan (**29**) wird an der OH-Gruppe schnell durch Glucuronidierung und Sulfatierung metabolisiert, wobei die Plasmahalbwertszeit mit 11 h gemessen wurde.^[249,250]

Insgesamt zeigt sich, dass Triclosan (**29**) die ENR vieler Organismen durch die Ausübung sehr ähnlicher, spezifischer Wechselwirkungen inhibiert. Für die inhibitorische Wirkung gegen verschiedene Protozoen, wie Plasmodien im Blutstadium, sind wahrscheinlich andere Wirkmechanismen verantwortlich. Triclosan (**29**) inhibiert das Blut- sowie das Leberstadium von *Plasmodium*, ist jedoch auf Grund seiner schwankenden Bioverfügbarkeit nicht für orale Arzneiformen geeignet.

^h In Rahmen dieser Arbeit wurde eine CC₅₀ von 33 µM gemessen.

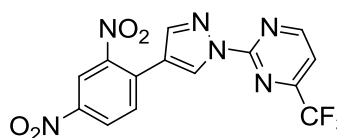
A.5.3.2. Weitere ENR-Inhibitoren

Da die Aktivität des Enoyl-ACP-Reduktase-Enzyms die Fettsäuresynthese begrenzt, wurden die meisten FAS-Inhibitoren als ENR-Inhibitoren entwickelt. Viele dieser Verbindungen, wie z. B. Aminopyridin- (Abb. 33) und Pyridinonderivate^[251,252,253] (nicht gezeigt), wurden gegen die bakterielle ENR entwickelt. Diese unterscheidet sich aber vom analogen Enzym in *Plasmodium* (vgl. A.4.1.3.), daher wirken Inhibitoren der bakteriellen ENR meist nicht gegen die *Pf*ENR.^[203] Eine Ausnahme bilden die von *Genzyme*^[232] durch *High-Throughput-Screening* (HTS) entwickelten Inhibitoren Genz-10850 (**41**) und Genz-5542 (**42**). Diese wurden gegen die ENR des Tuberkuloseerregers entwickelt, wirken aber auch moderat gegen die *Pf*ENR (Abb. 42).



Genz-10850^[232] (**41**)

IC₅₀ (*Pf*ENR): 18 µM

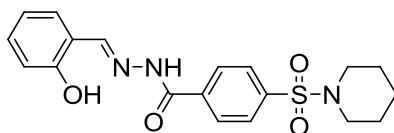


Genz-5542^[232] (**42**)

IC₅₀ (*Pf*ENR): 32 µM

Abbildung 42: ENR-Inhibitoren von *Genzyme*.^[232] Triclosan *Pf*ENR IC₅₀: 0,5 µM.

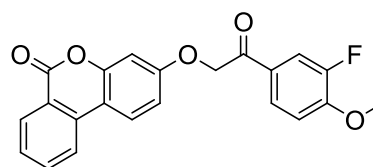
NICOLA et al.^[254] verwendeten eine der zahlreichen gelösten Kristallstrukturen der *Pf*ENR, um durch strukturbasiertes *virtual screening* eine Serie strukturell unterschiedlicher Inhibitoren zu entwickeln. Die auf diese Weise identifizierten Substanzen zeigen teils hohe Aktivität gegen das Enzym und in wenigen Fällen eine moderate Wirkung in einem Zell-basierenden Assay (Abb. 43).



CHBR5217961^[254] (**43**)

IC₅₀ (*Pf* Dd2): 6 µM

Restaktivität bei 50 µM (*Pf*ENR): 24 %



CHBR6842511^[254] (**44**)

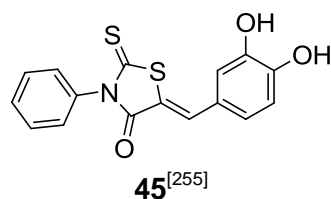
IC₅₀ (*Pf* Dd2): >100 µM:

Restaktivität bei 50 µM (*Pf*ENR): 9 %

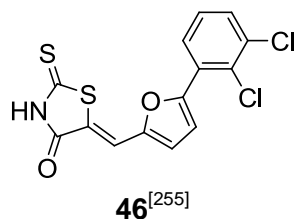
Abbildung 43: ENR-Inhibitoren von NICOLA et al.^[254] Triclosan *Pf* Dd2 IC₅₀: 4,5 µM. *Pf*ENR Restaktivität bei 50 µM: 0,2 %.

KUMAR et al.^[255,256] entwickelten mehrere Serien von 5-Arylalkylidenrhodaninderivaten, die eine sehr gute Wirkung gegen das *Pf*ENR-Enzym zeigen und auch gut gegen intraerythrozy-

täre Plasmodien wirksam sind. Wie zu erwarten, korrelieren auch hier die entsprechenden Werte aus beiden Experimenten nicht (Abb. 44).



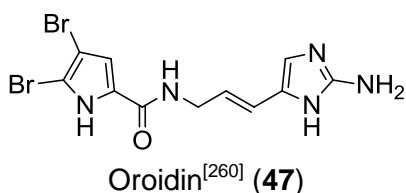
IC₅₀ (*Pf* Dd2): 0,75 µM
IC₅₀ (*Pf* ENR): 0,035 µM



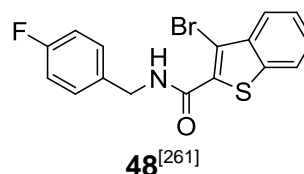
IC₅₀ (*Pf* ENR): 0,87 µM

Abbildung 44: Rhodaninderivate als *Pf*ENR-Inhibitoren. Triclosan *Pf*ENR IC₅₀: 66 nM.^[255]

Oroidin (**47**) ist ein Metabolit mehrerer mariner Schwamm-Arten und bildet strukturell die Grundlage für die Gruppe pharmakologisch aktiver Oroidin-Alkaloide.^[257] Für den Naturstoff ist bekannt, dass er die Bildung von Biofilmen aus Bakterien inhibiert.^[258,259] Zusätzlich zeigte TASDEMIR,^[260] dass die Substanz eine moderate Wirkung gegen kultivierte intraerythrozytäre *P. falciparum* hat und seine ENR inhibiert (Abb. 45).



IC₅₀ (*Pf* K1): 10 µM
IC₅₀ (*Pf* ENR): 0,77 µM



IC₅₀ (*Pf* ENR): 115 nM

Abbildung 45: Chemische Struktur von Oroidin. Triclosan *Pf*ENR IC₅₀: 48 nM.^[260] Rechts: Von BANAERJEE et al.^[261] entwickeltes Benzothiophenderivat.

Das Benzothiophenderivat **48** stammt aus einer Serie von BANAERJEE et al.^[261] getesteten Inhibitoren und weist eine gute Wirkung gegen die *Pf*ENR auf (Abb. 45).

A.5.3.3. Inhibitoren anderer FAS-Enzyme

Neben den ENR-Inhibitoren existieren deutlich weniger Inhibitoren der anderen FAS-Enzyme als potenzielle Antiprotozoika. Vaughan et al.^[163] zeigten jedoch, dass gerade *P. yoelii*, denen die β -Hydroxyacyl-ACP-Dehydratase (FabZ) oder β -Ketoacyl-ACP-Synthasen (FabB/F) fehlen, das Leberstadium nicht vollenden können und keine Erkrankung bei Mäusen hervorrufen.

Cerulenin (**24**) und Thiolactomycin (**49**) inhibieren die Ketoacyl-ACP-Synthasen (FabB und FabF) von Bakterien, Pflanzen und auch von *P. falciparum*.^[262,263] Cerulenin (**24**) bindet ko-

valent an das Enzym und inaktiviert es irreversibel, während Thiolactomycin (**49**) reversibel bindet (Abb. 46).^[263]

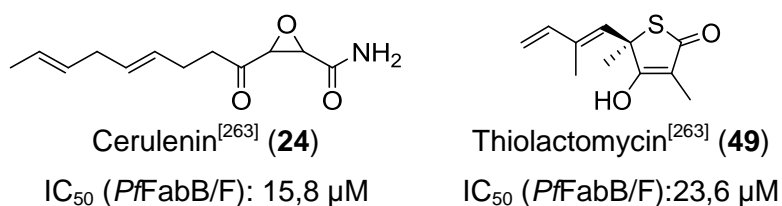


Abbildung 46: Inhibitoren der Ketoacyl-ACP-Synthase (FabB/F) von *P. falciparum*.^[263]

Hinsichtlich der Entwicklung von potenziellen Wirkstoffen gegen das Leberstadium von *Plasmodium* ist die β -Hydroxyacyl-ACP-Dehydratase (FabZ) wie FabB/F ein besonders attraktives *target*. Abgehen von Naturstoffen wie dem Brompyrrol-Alkaloid^[257] (**52**) und einer Vielzahl von Flavonoidderivaten sind das Diaryletherderivat NAS-91^[264] (**50**) und das Butadionderivat NAS-21^[264] (**51**) die einzigen literaturbekannten Inhibitoren dieses FAS-Enzyms in Protozoen. Trotz der Ähnlichkeit mit dem Diphenyletherderivat Triclosan (**29**) hemmt NAS-91 (**50**) nicht die Enoyl-ACP-Reduktase von *P. falciparum* (Abb. 47).^[264]

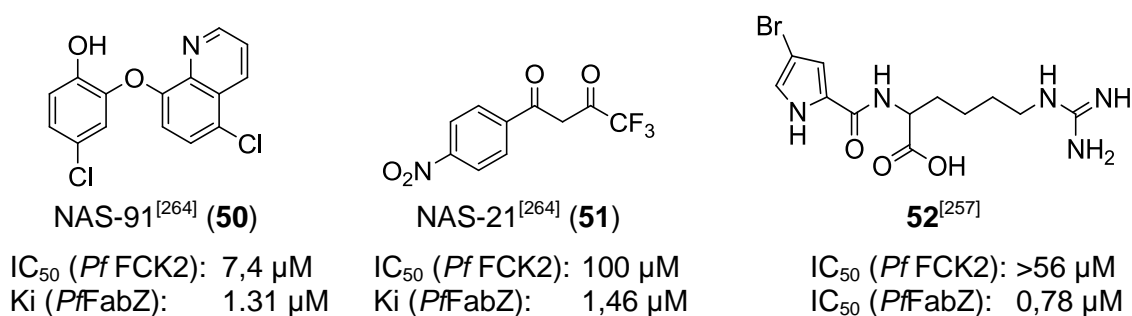


Abbildung 47: Inhibitoren der β -Hydroxyacyl-ACP-Dehydratase (FabZ) von *Plasmodium falciparum*. NAS-Derivate: Chloroquin IC₅₀: 18 nM.^[264]

Wie die übrigen Enzyme des Typ II FAS-Elongationszyklus, wird gegen Ende des Leberstadiums von *Plasmodium* die β -Ketoacyl-ACP-Reduktase (FabG) stark exprimiert. Sie ist für diese Phase der Entwicklung des Parasiten daher möglicherweise ähnlich essenziell wie die übrigen FAS-Enzyme. Für das entsprechende *FabG*-Gen existieren jedoch keine *knockout*-Versuche, die genauere Auskunft darüber geben können. Ein Versuch mit dem Desinfektionsmittel und FabG-Inhibitor Hexachlorophen (**54**) deutet aber auf eine wichtige Rolle des Wirkstoffs im präerythrozytären Stadium: Das Diphenylmethanderivat hemmt das Wachstum von *P. falciparum* im Hepatozyten nach 40 h mit einer IC₅₀ von 4,8 µM.^[265] Hexachlorophen (**54**) eignet sich jedoch nicht für eine Therapie, da es nach Absorption akut neurotoxisch wirkt und daher bereits zu mehreren Todesfällen geführt hat.^[266,267,268] Interessanterweise inhibiert

auch das Diarylthioetherderivat **55**, aber nicht das strukturell sehr ähnliche Triclosan (**29**) die β -Ketoacyl-ACP-Reduktase (Abb. 48).^[265]

Das Fettsäurederivat Hexadec-2-insäure (**53**) hemmt sowohl die FAS-Enzyme FabI, FabZ als auch FabG und zeigt eine moderate Wirkung gegen erythrozytäre *P. falciparum*. Zusätzlich hemmt es das Wachstum präerythrozytärer Formen in Hepatozyten mit einer IC_{50} (43 h) von 19,3 μ M (Atovaquon (**10**) IC_{50} (43 h): 1,0 und 6,8 nM, je nach Messmethode).^[269]

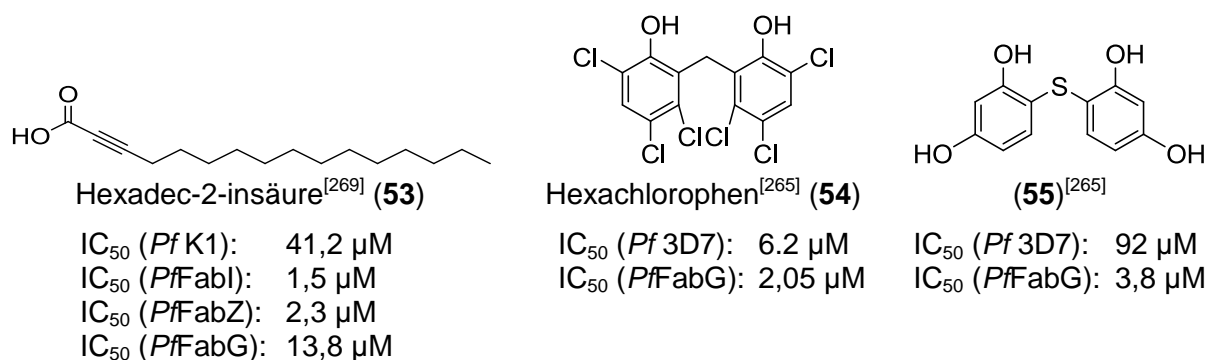
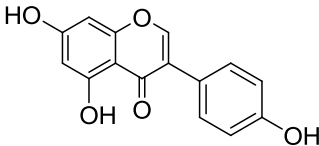
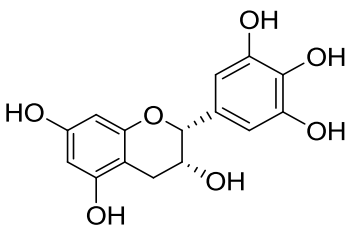
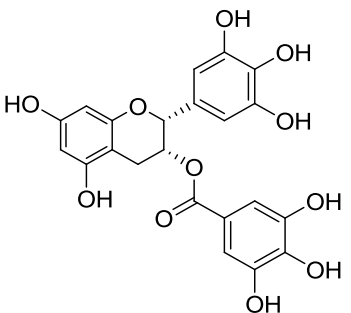


Abbildung 48: Inhibitoren der β -Ketoacyl-ACP-Reduktase (FabG) von *Plasmodium falciparum*. Hexachlorophen (**54**) und **55**: Triclosan *Pf* 3D7 IC_{50} : 1,3 μ M. Hexadec-2-insäure (**53**): Triclosan *Pf* ENR IC_{50} : 48 nM. Chloroquin *Pf* K1 IC_{50} : 0,18 μ M.^[269]

Auch mehrere Flavonoidderivate hemmen FAS-Enzyme. Am wirksamsten ist (-)-Epigallocatechingallat (**26**), das auch die Fettsäuresynthese in Säugetieren inhibiert (vgl. A.4.1.1.). Die Veresterung mit der Gallussäure ist für die Wirkung offensichtlich essenziell, da (-)-Epigallocatechin (**57**) keinen Effekt zeigt (Tab. 2).^[270] Wie schon beschrieben, sind Versuche mit Flavonoiden und isolierten Enzymen oft problematisch. Derartige Wirkstoffe reagieren durch Aggregatbildung mit dem Enzym oft unspezifisch.^[179,180,181] Gegen eine unspezifische Wirkung spricht, dass einzelne Flavonoidderivate im Experiment nur gegen jeweils eines der drei Enzyme wirken (z. B. Genistein (**56**), andere nicht gezeigt).

Tabelle 2: Inhibitorische Wirkung ausgewählter Flavonoidderivate auf rekombinante Enzyme der Typ II FAS von *Plasmodium falciparum* und im Blutstadium kultivierte *Plasmodium falciparum* (chloroquinsensitiver NF54 Stamm). n.w.: Nicht wirksam.^[270]

		IC ₅₀ [μM]			<i>P. f.</i> NF54
		FabG	FabZ	FabI	
Genistein ^[270] (56)		n.w.	7	n.w.	38,2
(-)-Epigallocatechin ^[270] (57)		n.w.	n.w.	n.w.	>150
(-)-Epigallocatechingallat ^[270] (26)		0,3	0,4	0,2	25

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass sich Enzyme der FAS II sowohl in Leberstadien von *Plasmodium spp.* als auch in *T. gondii* als Zielstrukturen für die Entwicklung neuartiger Wirkstoffe gegen die Apicomplexa anbieten. Durch die umfassende Forschungsarbeit auf diesem Gebiet existiert eine Vielzahl gelöster Ko-Kristallstrukturen, die für ein *screening* von virtuellen Datenbanken verwendet werden können. Dennoch ist es bis heute nicht gelungen, einen potenten Wirkstoff zu entwickeln, der gleichzeitig das Parasitenwachstum in einer deutlich submikromolaren Konzentration hemmt. Nur wenige dieser Verbindungen wurden bisher gegen präerythrozytäre Stadien von *Plasmodium spp.* getestet.

A.6. Aufgabenstellung

Zur Behandlung und Prävention der Malariaerkrankung werden dringend neue Wirkstoffe benötigt. Die meisten der bestehenden Medikamente wirken ausschließlich auf das Blutstadium von *Plasmodium* und können daher weder eine Erkrankung selbst noch ihre Übertragung verhindern. Zusätzlich drohen selbst die neuesten und effektivsten Therapeutika auf Grund von Resistenzen unwirksam zu werden.^[100,101] Wirksamkeit gegen ein präerythrozytäres Stadium ist Voraussetzung für eine kausale prophylaktische Therapie. Gleichzeitig werden so die für den Vektor infektiösen Formen nicht gebildet, wodurch eine Übertragung der Krankheit unmöglich wird. Ein neuartiger Wirkstoff sollte demnach nicht nur eine Wirksamkeit gegen das Blutstadium der Malariaerreger aufweisen, sondern zusätzlich auch die Entwicklung der Leberstadien hemmen. Darüber hinaus sollten potenzielle Wirkstoffe neuartige chemische Strukturen und Wirkprinzipien aufweisen, um bestehende Resistenzen zu umgehen.

Nach aktuellen Erkenntnissen sind FAS-Enzyme in Plasmodien für den erfolgreichen Abschluss des Leberstadiums essenziell.^[162,163] Zusätzlich sind viele FAS-Inhibitoren aktiv gegen erythrozytäre Formen von *Plasmodium*. Obwohl hierfür bisher der Wirkmechanismus nicht geklärt ist, wurde am Beispiel des Triclosans (**29**) gezeigt, dass FAS-Inhibitoren gegen mehrere Stadien des Malariaerregers wirken können.^[244] Ein strukturell neuartiger und optimierter FAS-Inhibitor würde also möglicherweise den oben genannten Anforderungen an einen neuen Wirkstoff gerecht werden.

Ziel des ersten Teils der vorliegenden Arbeit ist die Synthese und Testung von Inhibitoren der Fettsäuresynthese in *Plasmodium spp.* und *Toxoplasma gondii* als potenzielle neue Wirkstoffe gegen diese Erreger. Hierfür sollten zum einen neuartige Leitstrukturen entwickelt und zum anderen eine bereits bekannte Verbindung strukturell optimiert werden.

A.6.1. Entwicklung strukturell neuartiger FAS Inhibitoren

Um neue Leitstrukturen zu finden, sollten, unter Verwendung bestehender gelöster Kristallstrukturen für die Enoyl-ACP-Reduktase von *P. falciparum*, virtuelle Substanzbibliotheken nach kleinen Molekülen durchsucht werden, die möglicherweise an die Zielstruktur binden (*virtual screening*). Eine Auswahl von besonders vielversprechenden, strukturell möglichst unterschiedlichen Verbindungen sollte synthetisiert und in verschiedenen Assays getestet werden:

In zellbasierten Proliferations-Assays sollte die Aktivität gegen erythrozytäre Formen von *P. falciparum*, *T. gondii* Tachyzoiten sowie ihre Zytotoxizität gegen eine humane Zelllinie ermittelt werden. Die Aktivität der potenziellen ENR-Inhibitoren gegen das Enzym sollte an der Enoyl-ACP-Reduktase von *T. gondii* gemessen werden, da nur dieser Assay im Rahmen dieser Arbeit verfügbar war. Die ENR aus *T. gondii* weist, wie beschrieben, eine hohe Homologie zum analogen Enzym aus *P. falciparum* auf. Beide Enzyme sind außerdem in ihrem aktiven Zentrum fast identisch (vergleiche A.4.1.3.). Daher kann die *Tg*ENR als Modell für die *Pf*ENR fungieren.

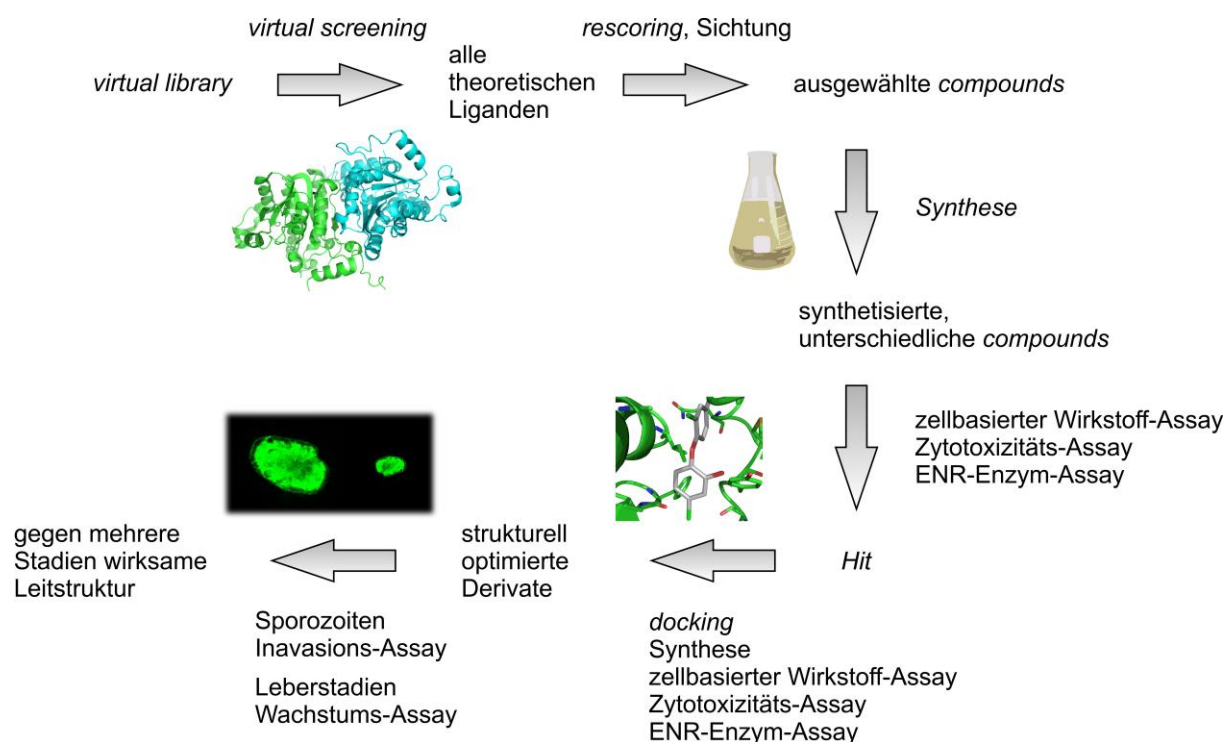


Abbildung 49: Geplanter Arbeitsablauf zur Entwicklung von FAS-Inhibitoren gegen mehrere Stadien von *Plasmodium*.

Wirksame, nicht zytotoxisch wirkende Testsubstanzen sollten strukturell weiter optimiert werden. Hierbei sollten insbesondere solche Derivate synthetisiert werden, die von einem weiteren Programm als optimierte Liganden der *Pf*ENR berechnet wurden.

Am Ende dieser Arbeit sollten Substanzen, die sowohl im zellbasierten- als auch im Enzym-Assay hohe Aktivität zeigen und gleichzeitig keine unerwünschte Toxizität aufweisen, gegen *P. berghei*-Parasiten im Leberstadium getestet werden (Abb. 49).

A.6.2. Synthese und biologische Evaluierung von 3,5-disubstituierten Thiazolidin-2,4-dionderivaten

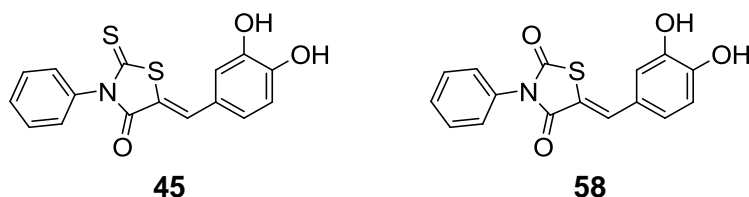


Abbildung 50: 3,5-disubstituiertes Thiazolidin-2,4-dion- und Rhodaninderivat.

Das im Arbeitskreis SCHLITZER entwickelte 3,5-disubstituierte Thiazolidin-2,4-dionderivat **58** entspricht strukturell dem von KUMAR et al.^[255] entwickelten Rhodaninderivat **45** (Abb. 50), unterscheidet sich von diesem jedoch durch den Ersatz des Thion-Schwefelatoms durch ein Sauerstoffatom. **58** weist bei gleicher Wirksamkeit gegen intraerythrozytäre *P. falciparum* eine geringere Zytotoxizität auf.^[271] Die Synthese von Thiazolidin-2,4-dionderivaten stellt einen Schwerpunkt der Forschungsarbeit im Arbeitskreis SCHLITZER dar und entsprechende Syntheseprotokolle wurden bereits entwickelt. Die geplante strukturelle Derivatisierung ist in Abbildung 51 dargestellt: Zum einen sollte der 3-Phenylrest durch unterschiedliche Substituenten modifiziert werden, um auf diese Weise die Eigenschaften einer potenziellen Zielstruktur zu charakterisieren. Durch ein entsprechend passendes Substitutionsmuster kann dann die Aktivität der Verbindung möglicherweise erhöht werden. Zum anderen sollte eruiert werden, ob sich die polare Katecholstruktur des 5-Phenylalkylidensubstituenten als *prodrug* maskieren lässt. Ester- oder Acetalderivate sind lipophiler als Verbindungen mit freien Hydroxylfunktionen und können möglicherweise Membranen leichter passieren, um schließlich intrazellulär gespalten zu werden.

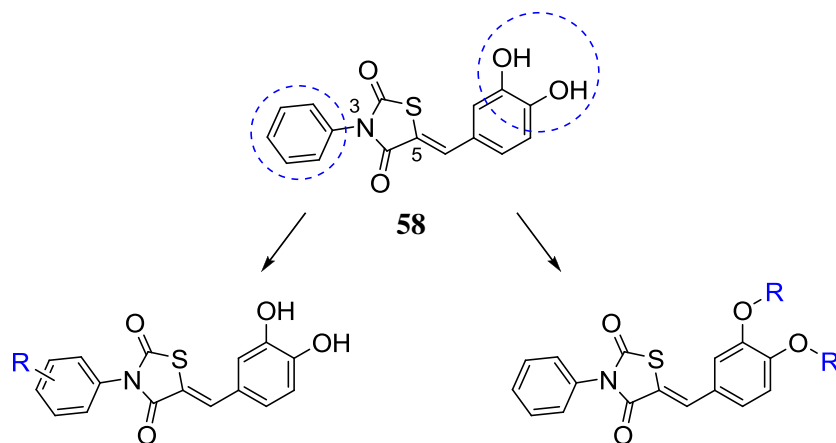


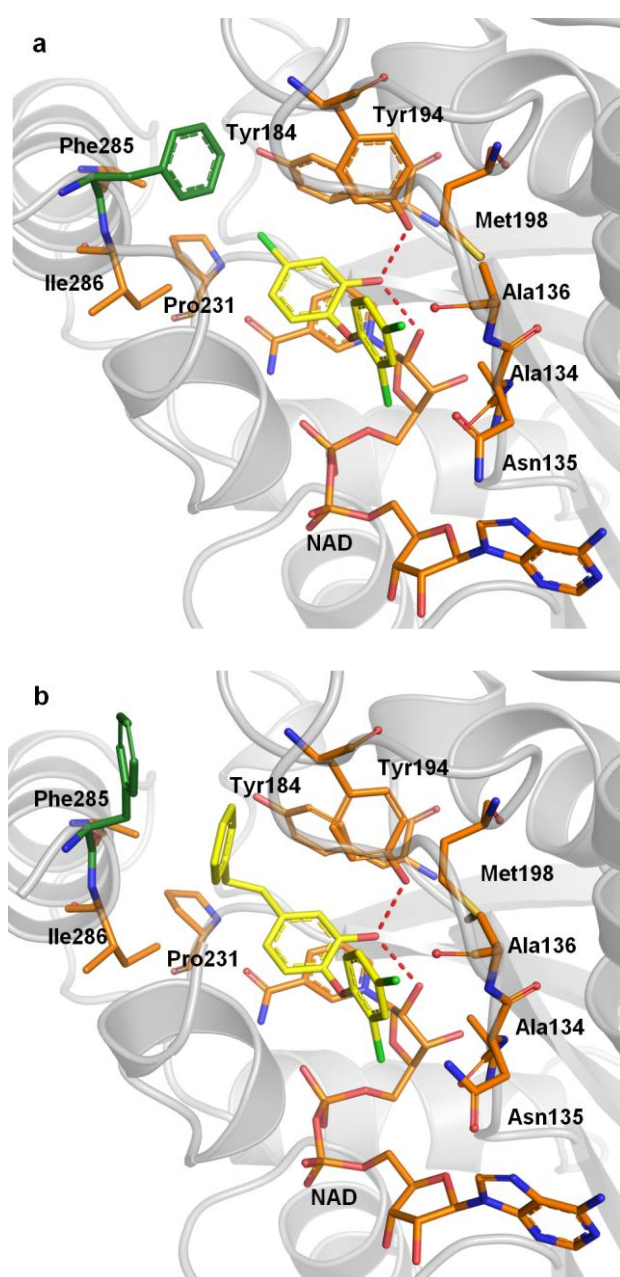
Abbildung 51: Geplante Optimierung der bestehenden Leitstruktur **58**.

A.7. Präparative Arbeiten und Ergebnisse der biologischen Testung

A.7.1. Entwicklung strukturell neuartiger ENR-Inhibitoren

A.7.1.1. Virtual screening

Um strukturell neuartige ENR-Inhibitoren durch *virtual screening* zu identifizieren, wurden von S. GLINCAⁱ zwei gelöste Kristallstrukturen der PfENR verwendet: In PDB 2O2Y^[203] ist das Enzym mit dem Inhibitor Triclosan (**29**) kokristallisiert (Abb. 52a), PDB 2OOS^[225] zeigt



das 5-Phenethylsubstituierte Analogon **40** (Abb. 52b). Durch einen derartigen großen, hydrophoben Substituenten nimmt Phe285 hier eine andere Konformation ein, wobei die Orientierung der Diphenyletherpartialstruktur der Inhibitoren in beiden Strukturen gleich ist: Die phenolische OH-Gruppe beider Derivate bildet Wasserstoffbrücken sowohl zu Tyr194 als auch zur 2'-OH-Gruppe der Zuckerpartialstruktur des Kofaktors (Abb. 52, gestrichelte rote Linien).^[272] Diese Wechselwirkungen haben großen Anteil an der Affinität des Inhibitors zum Enzym.^[225] Der Kofaktor in den beiden Kokristallstrukturen wurde belassen und als Teil der Bindetasche definiert. In diese wurden etwa 14.800 fragmentartige Verbindungen einer Substanzbibliothek der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. KLEBE gedockt. Hier-

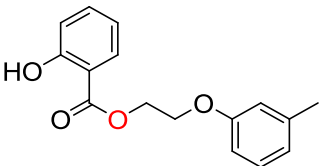
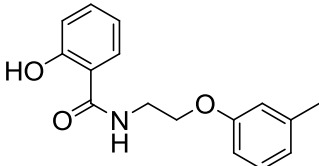
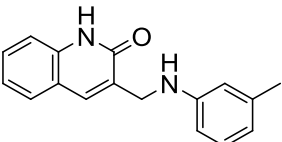
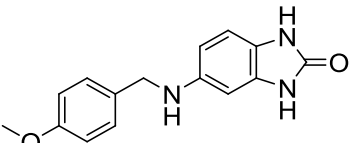
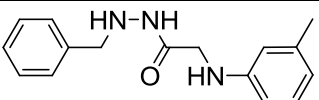
Abbildung 52: Lösungen der Kristallstrukturen PDB 2O2Y^[203] (a) und 2OOS^[225] (b). Phe285 (grün) kann, abhängig vom gebundenen Inhibitor, unterschiedliche Konformationen einnehmen. Ko-kristallisierte Inhibitoren sind gelb und die für die Wechselwirkungen mit den Inhibitoren relevanten AS sowie der Kofaktor sind orange dargestellt. Docking und Visualisierung mit PyMOL^[166] von S. GLINCA.^[272]

ⁱ Arbeitsgruppe Prof. Dr. G. KLEBE, Philipps-Universität Marburg

zu wurde das Programm GOLD^[273] verwendet. Die auf diese Weise erhaltenen Ergebnisse wurden durch die DSX-*scoring*-Funktion^[274] neu bewertet und sortiert (*ranking*). Die am besten bewerteten *docking*-Posen wurden visuell überprüft. Als essenzielle Bindungseigenschaften wurden eine Stapelwechselwirkung mit der aromatischen Nikotinamidpartialstruktur des Kofaktors sowie Wasserstoffbrücken zu Tyr194 und zur 2'-OH-Gruppe der Ribose des Kofaktors definiert. Falls nicht anders gekennzeichnet, zeigen die folgenden Abbildungen von *docking*-Posen die Kristallstruktur PDB 2O2Y.^[203]

Anhand dieser Kriterien und dem *ranking* des Programms wurden acht strukturell unterschiedliche potenzielle Inhibitoren ausgewählt.^[272] Falls erforderlich, wurden diese geringfügig modifiziert, u. a. um metabolisch labile Strukturelemente zu vermeiden (Tab. 3). Beispielsweise handelt es sich bei **59** aus dem *virtual screening* um ein Esterderivat der Salicylsäure. Die hydrolyseempfindliche Esterfunktion könnte durch Esterasen im Plasma oder intrazellulär gespalten werden, wodurch der Inhibitor möglicherweise in zellbasierten Assays oder *in vivo* unwirksam wäre. Stattdessen wurde diese Verbindung als Amidderivat **60** der Salicylsäure synthetisiert. Vor jeder geplanten Modifikation wurde anhand des vorgeschlagenen Bindungsmodus (Abb. 53) überprüft, ob sie sich nicht negativ auf die Wirksamkeit der Verbindung auswirken kann.

Tabelle 3: Chemische Strukturen der Verbindungen aus dem *virtual screening* und der synthetisierten Derivate. Rot: Substituierte Strukturelemente.

	Verbindungen aus dem <i>virtual screening</i>		Synthetisierte Verbindungen
59		60	
61			wie vorgeschlagen
62			wie vorgeschlagen
63			wie vorgeschlagen

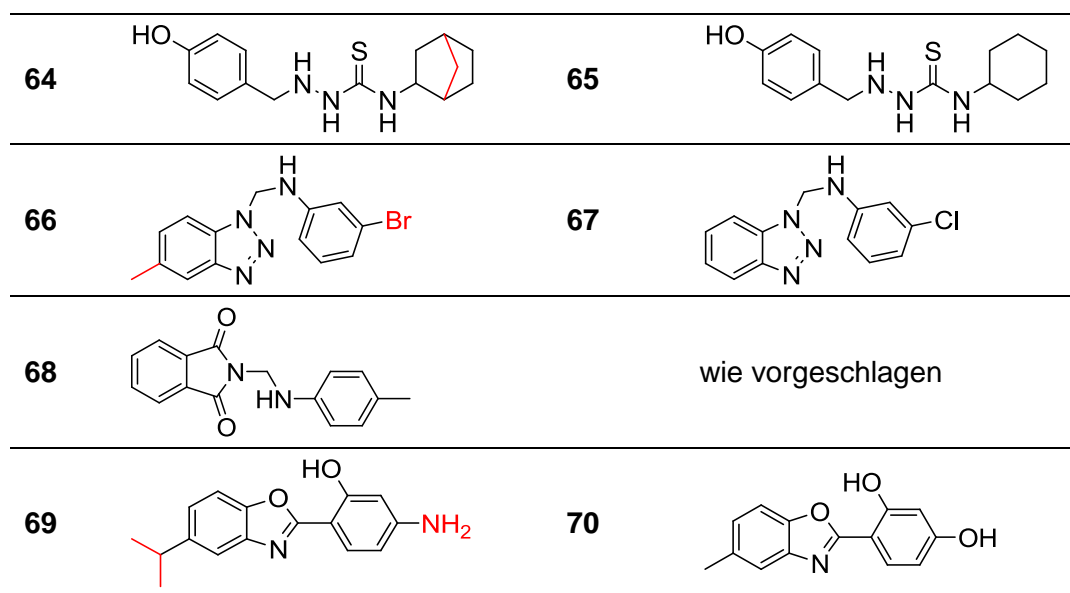


Abbildung 53 zeigt die vom *docking*-Programm vorgeschlagenen Bindungsmodi der acht Verbindungen aus dem *virtual screening* in der Bindetasche von PDB 2O2Y.^[203] Entsprechend der Kriterien bei der Auswahl der potenziellen Inhibitoren weisen alle Liganden ein aromatisches System auf, das Stapelwechselwirkungen mit der aromatischen Nikotinamidpartialstruktur des Kofaktors ausbilden kann. Die Verbindungen **59**, **61**, **68** und **69** können über eine Carbonylfunktion oder eine phenolische OH-Gruppe Wasserstoffbrücken zu Tyr194 und der 2'-OH-Gruppe der Ribose des Kofaktors ausüben. Diese Wechselwirkung wird von den Verbindungen **62**, **63**, **64** und **66** über Stickstoffatome ermöglicht.^[272]

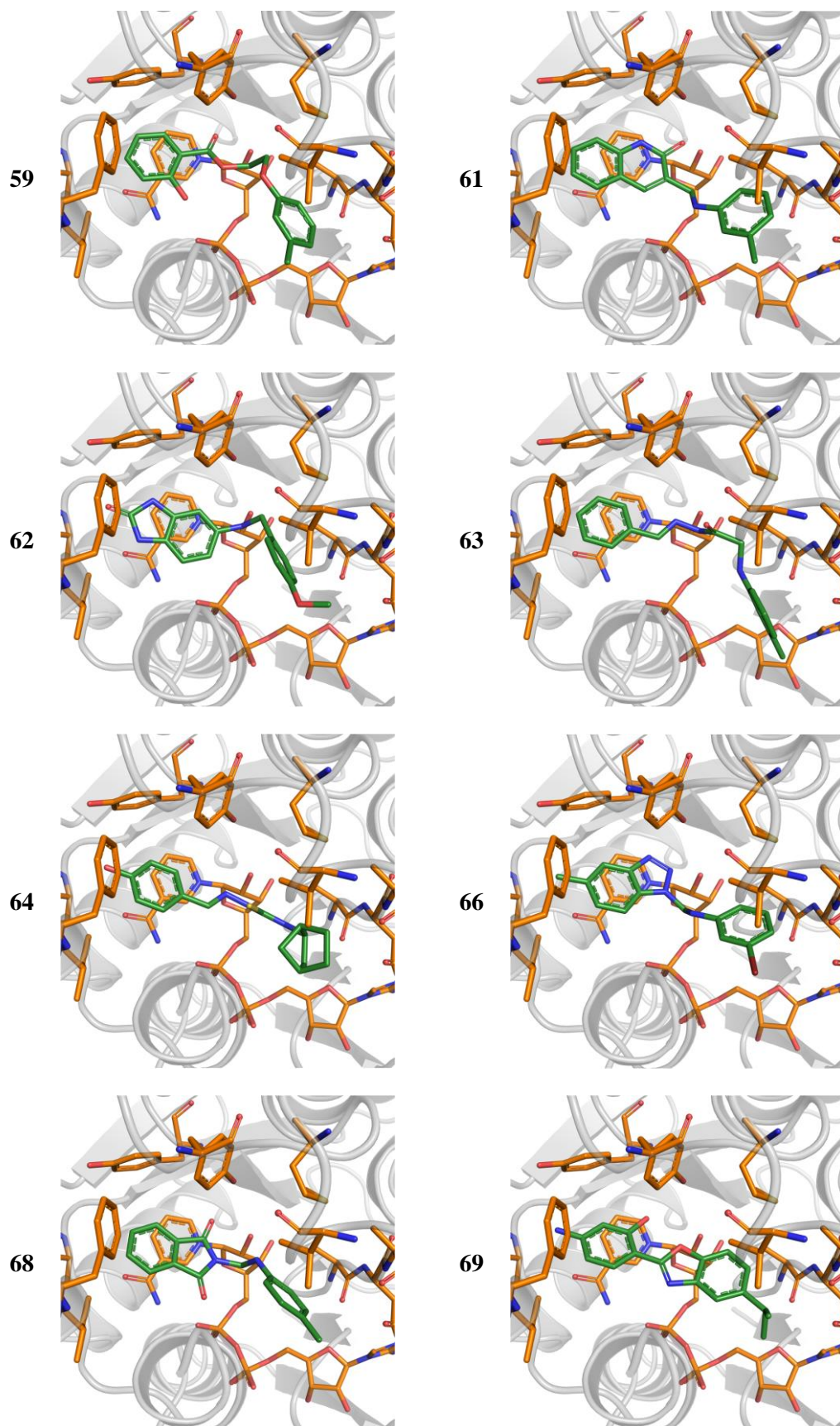
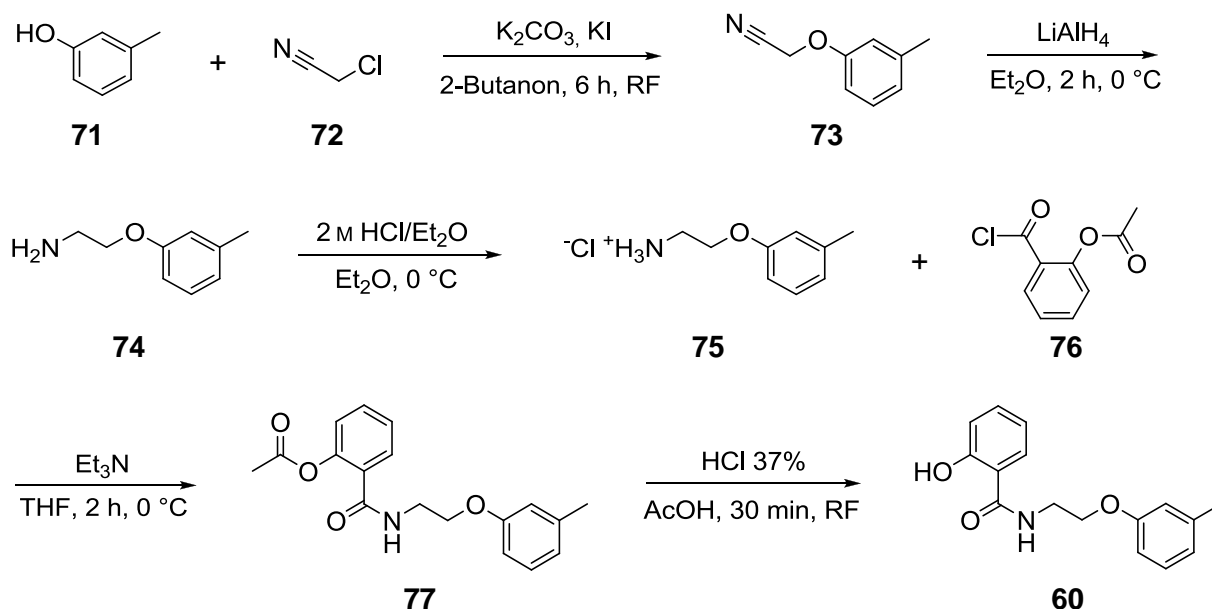


Abbildung 53: Dockinglösungen für die acht Verbindungen (grün) aus dem *virtual screening*. Docking und Visualisierung mit PyMOL.^[166] S. GLINCA.^[272]

A.7.1.2 Synthese der Verbindungen aus dem virtual screening

Für die acht Verbindungen aus dem *virtual screening* wurden Syntheserouten, ausgehend von einfachen, kommerziell erhältlichen Edukten, entwickelt. Die Verbindungen wurden in einem (**67** und **68**) oder bis zu vier Syntheseschritten dargestellt.



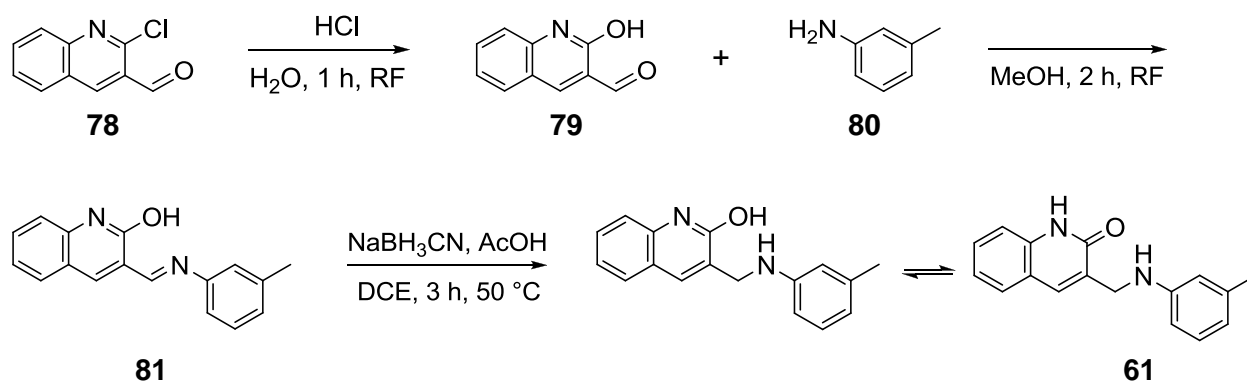
Schema 1: Syntheschema des Aryloxyalkylbenzamidderivats **60**.

Schema 1 zeigt die Synthese des Salicylsäureamidderivats **60** ausgehend von *m*-Kresol (**71**). Das Phenolderivat lässt sich durch K_2CO_3 deprotonieren und mit 2-Brom- (nicht gezeigt) oder 2-Chloracetonitril (**72**) in einer nukleophilen Substitution zum Aryl-Alkyl-Etherderivat **73** umsetzen. Wurde das Alkylbromidderivat verwendet, ließen sich jedoch kürzere Reaktionszeiten bis zur vollständigen Umsetzung der Edukte beobachten. Die weiteren Synthesen wurden dennoch ausschließlich mit dem Chloridderivat **72** durchgeführt, da es im Rahmen dieser Arbeit bereits in größeren Mengen zur Verfügung stand. Als Lösungsmittel wurde 2-Butanon verwendet, da auf diese Weise eine etwa 10 % höhere Ausbeute erzielt wurde als mit dem ebenfalls polar aprotischen Aceton. Die Reaktionszeit war in beiden Fällen gleich (Tab. 4).

Tabelle 4: Reaktionsbedingungen und Ausbeuten für die Darstellung des Aryl-Alkyl-Etherderivats **73**. Reaktionszeiten wurden durch stündliche Kontrolle mittels Dünnschichtchromatographie ermittelt. Lsm.: Lösungsmittel.

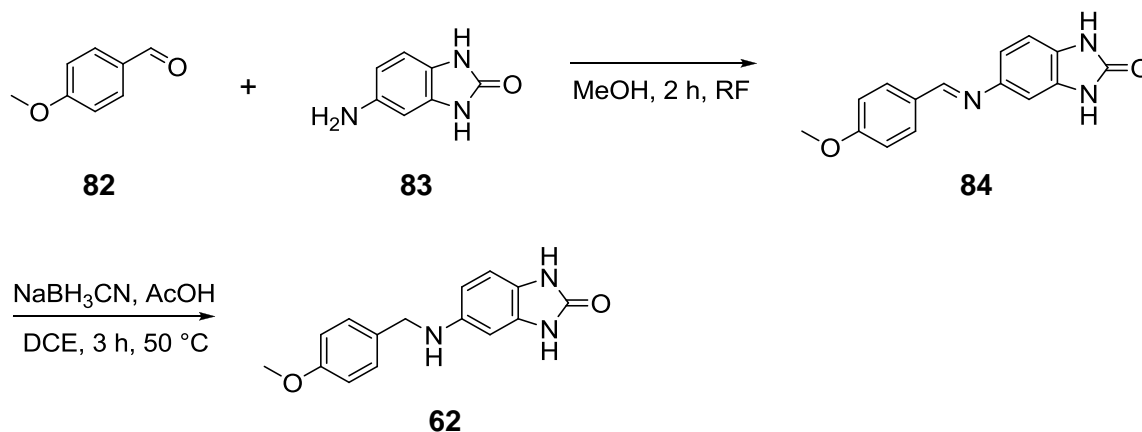
Alkylhalogenid	Lsm.	Produkt	Reaktionszeit [h]	Ausbeute [%]
2-Chloracetonitril (72)	Aceton	73	6	62
2-Chloracetonitril (72)	2-Butanon	73	6	69
2-Bromacetonitril (nicht gezeigt)	2-Butanon	73	4	68

Das so erhaltene 2-(*m*-Tolyloxy)acetonitril (**73**) wurde mit Lithiumaluminiumhydrid zum entsprechenden Aminoderivat **74** reduziert und in Form seines Hydrochlorids **75** isoliert. Im Folgenden wurde mit Acetylsalicylsäurechlorid (**76**) zum *O*-Acetylsalicylsäureamiddderivat **77** acyliert und schließlich die *O*-Acetylgruppe sauer-hydrolytisch abgespalten.



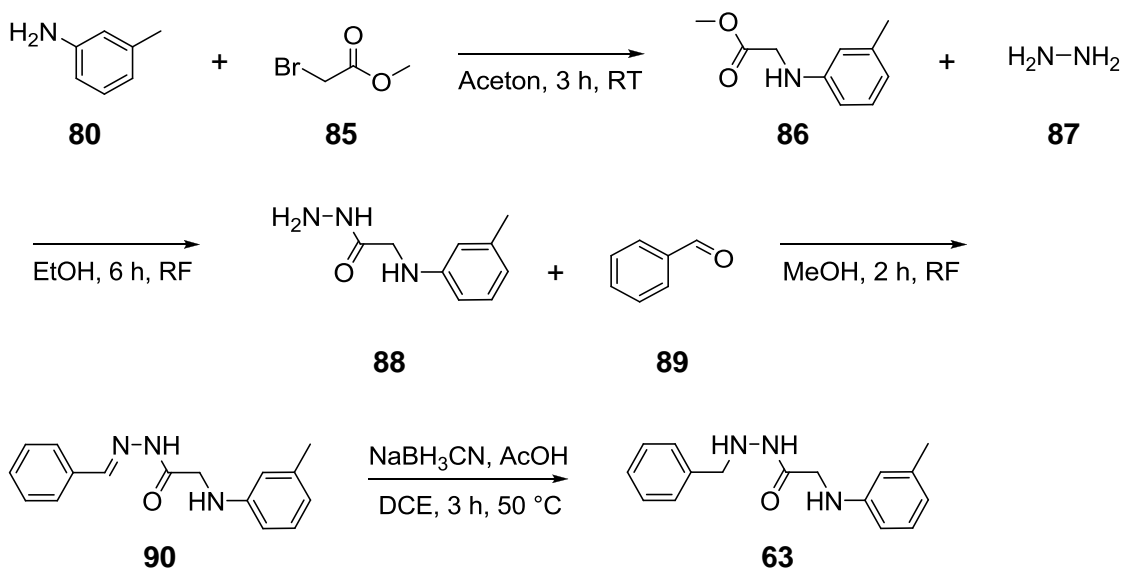
Schema 2: Syntheschema des 2-Chinolinonderivats **61**.

Zur Synthese des 2-Chinolinonderivats **61** wurde zunächst 2-Chlorchinolin-3-carbaldehyd (**78**) zum 2-Hydroxyderivat **79** hydrolysiert. Anschließend erfolgte mit *m*-Toluidin (**80**) die Kondensation zum Iminoderivat **81**, das als freie Base isoliert wurde. Diese wurde schließlich mit Natriumcyanoborhydrid zum entsprechenden Aminoderivat **61** reduziert (Schema 2).



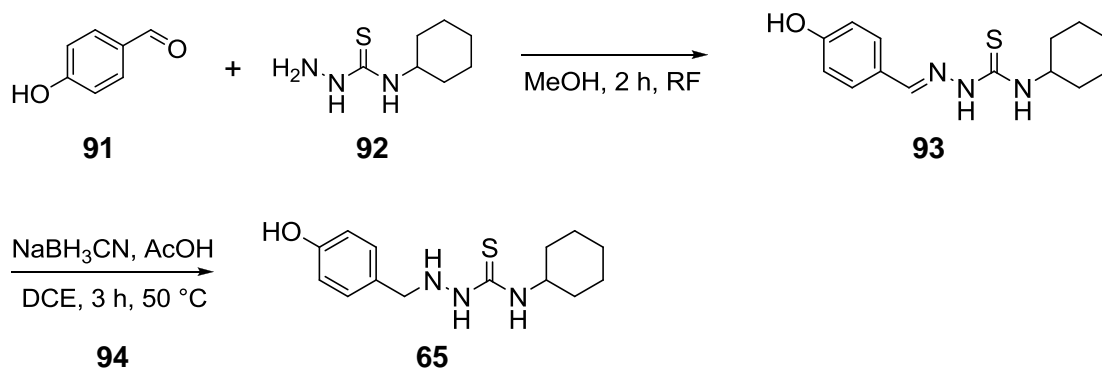
Schema 3: Syntheschema des Benzoimidazol-2(3*H*)-onderivats **62**.

Um das Benzoimidazol-2(3*H*)-onderivat **62** zu erhalten, wurde zunächst 4-Methoxybenzaldehyd (**82**) mit 5-Amino-1H-benzo[*d*]imidazol-2(3*H*)-on (**83**) zum Iminoderivat **84** kondensiert. Dieses wurde als freie Base isoliert und schließlich, wie zuvor beschrieben, zum Aminoderivat **62** reduziert (Schema 3).



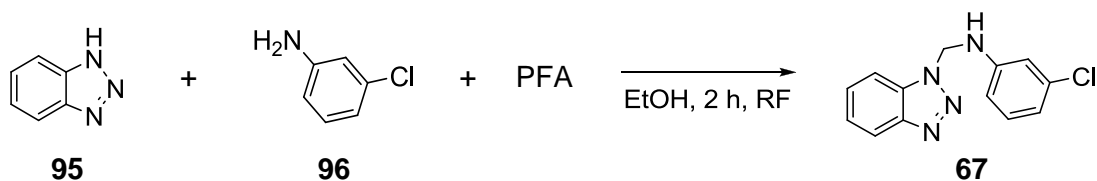
Schema 4: Syntheschema des Essigsäurehydrazidderivats **63**.

Zur Synthese des Essigsäurehydrazidderivats **63** wurde zunächst das Esterderivat **86** durch nukleophile Substitution von Bromessigsäuremethylester (**85**) mit *m*-Toluidin (**80**) synthetisiert. Dieses wurde mit Hydrazin (**87**) zu 2-(*m*-Tolylamino)acetohydrazid (**88**) umgesetzt. Die Kondensation mit Benzaldehyd (**89**) ergab das *N'*-benzylidensubstituierte Hydrazidderivat **90**, das schließlich zum *N'*-benzylsubstituierten Hydrazidderivat **63** reduziert wurde (Schema 4).



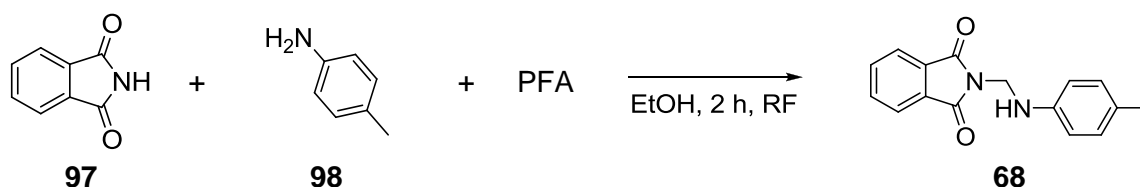
Schema 5: Syntheschema des 1-Aldehydthiosemicarbazonderivats **65**.

Um das 1,4-disubstituierte Thiosemicarbazidderivat **65** zu erhalten, wurde zunächst das entsprechende 1-Aldehydthiosemicarbazonderivat **93** dargestellt. Hierzu wurde 4-Hydroxybenzaldehyd (**91**) mit 4-Cyclohexylthiosemicarbazid (**92**) kondensiert. **93** wurde schließlich mit Natriumcyanoborhydrid reduziert (Schema 5).



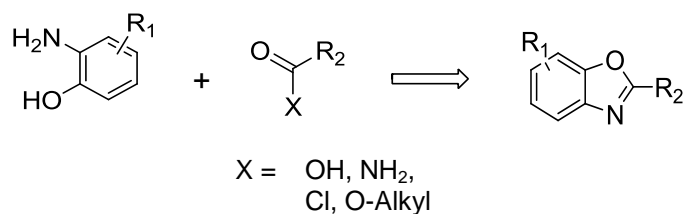
Schema 6: Syntheschema des Benzotriazolderivats **67**. PFA: Paraformaldehyd.

Das Benzotriazolderivat **67** konnte in einem Schritt durch Mannich-Reaktion aus 1*H*-Benzotriazol (**95**), 3-Chloranilin **96** und Paraformaldehyd dargestellt werden. Auf ähnliche Weise wurde das *N*-substituierte Phthalimidderivat **68** aus Phthalimid (**97**), *p*-Toluidin (**98**) und Paraformaldehyd synthetisiert (Schema 6).



Schema 7: Syntheschema des Phthalimidderivats **68**. PFA: Paraformaldehyd.

Zur Darstellung 2-substituierter Benzoxazolderivate wie **70** sind unterschiedliche Synthesewege beschrieben, die sich grob in zwei Gruppen einteilen lassen: Das entsprechende aromatische Aminoderivat kann zum einen säurekatalysiert mit einem Carbonsäurederivat in hochsiedenden Lösungsmitteln oder mikrowellenunterstützt umgesetzt werden (Schema 8).^[275,276,277,278]



Schema 8: Allgemeines Schema zur Synthese von Benzoxazolderivaten aus den entsprechenden 2-Aminophenol- und Carbonsäurederivaten.

Eine zweite Variante erfordert zunächst die Reaktion eines 2-Aminophenol- und eines Aldehydderivats zum 2-(Benzylidenamino)phenolderivat. Dieses kann dann in der Folge oxidativ, radikalisch oder photochemisch zyklisiert werden. CHANG et al.^[279] beschreiben etwa die oxidative Zyklisierung von 2-(Benzylidenamino)phenolderivaten wie **101** durch DDQ (engl. 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone, **99**, Abb. 54) bei Raumtemperatur. Nach KAWASHITA et al.^[280] lassen sich derartige Iminoderivate mit Hilfe von Darco® Aktivkohle bei hoher Temperatur oxidativ zyklisieren. Hierbei sollen sich sowohl unter O₂-Atmosphäre als

auch unter Raumluft die entsprechenden 2-substituierten Benzoxazolderivate bilden (Schema 9).

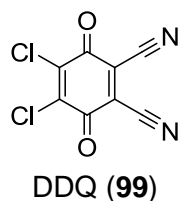
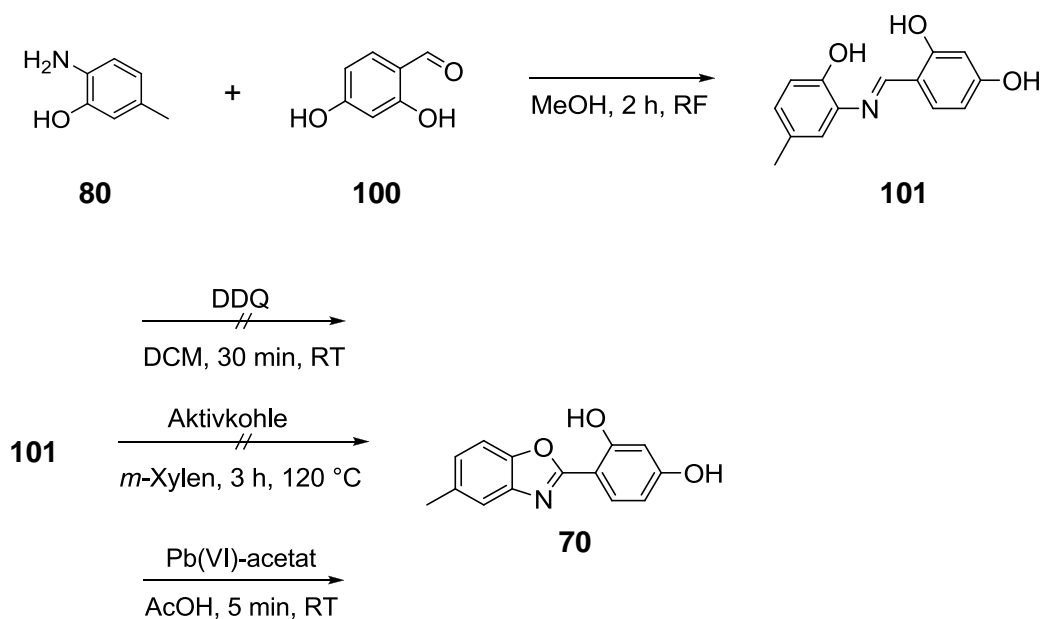


Abbildung 54: Chemische Struktur von DDQ.

Gemäß der Vorschrift aus der genannten Literatur wurde das Iminoderivat **101** und Darco® Aktivkohle in *m*-Xylen suspendiert und 3 h im offenen Reaktionsgefäß auf 120 °C erhitzt. Auf diese Weise konnte jedoch das Benzoxazolderivat **70** nicht dargestellt werden und es wurde ausschließlich das Edukt isoliert. Auch die oxidative Zyklisierung durch DDQ (**99**) bei RT führte nicht zum Erfolg. **70** konnte schließlich durch Verwendung von Blei(VI)-acetat als Oxidationsmittel bei RT und sehr kurzer Reaktionszeit dargestellt werden (Schema 9).



Schema 9: Versuche zur oxidativen Zyklisierung des 2-(Benzylidenamino)phenolderivats **101**.

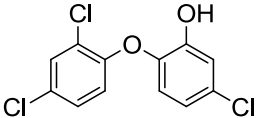
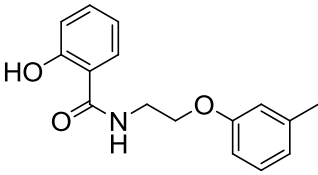
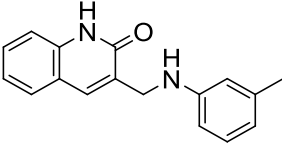
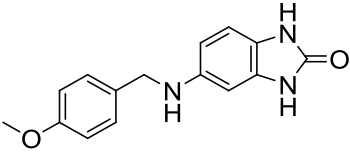
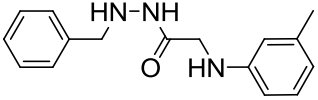
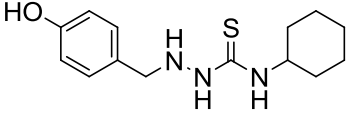
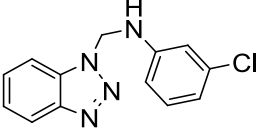
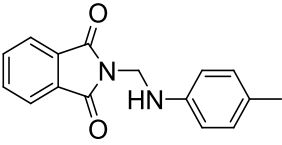
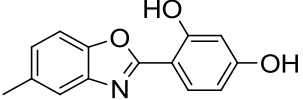
A.7.1.3. *Biologische Evaluierung der Verbindungen aus dem virtual screening*

Die biologische Wirksamkeit der synthetisierten Verbindungen wurde in zellbasierten Assays sowohl gegen *P. falciparum* als auch teilweise gegen *T. gondii* getestet. Von allen Verbindungen wurde die Zytotoxizität gegen die HeLa Zelllinie bestimmt.

Die Messung der inhibitorischen Wirkung auf das Wachstum erythrozytärer *P. falciparum* erfolgte in einem zellbasierten 72 h Wirkstoff-Proliferations-Assay. Es wurde ein moderat

chloroquinresistenter ($IC_{50} = 110 \text{ nM}$) Dd2 Stamm verwendet und die Quantifizierung des Wachstums der Malariaerreger erfolgte durch den Fluoreszenzfarbstoff SYBR Green I (**21**). Von den acht getesteten Substanzen zeigte nur das Salicylsäureamidderivat **60** ($IC_{50} = 7,9 \text{ }\mu\text{M}$) eine inhibitorische Wirkung auf die intraerythrozytär kultivierten Plasmodien. Diese Verbindung weist gleichzeitig den höchsten clog P-Wert der acht synthetisierten Derivate auf (Tab. 5) und ist folglich vergleichsweise apolar. Die übrigen sieben Verbindungen weisen eine IC_{50} von $>50 \text{ }\mu\text{M}$ auf.

Tabelle 5: Testwerte der acht synthetisierten Verbindungen aus dem *virtual screening* und von Triclosan. M_R : Relative Molekülmasse. Chloroquin: 110 nM . $^1\text{cLog p}$ Werte wurden mit dem Programm MOE^[281] berechnet.

		M_R [g/mol]	cLog P ^I	IC_{50} (<i>P. falciparum</i>) [μM]	CC_{50} (HeLa) [μM]
TCL (29)		289,54	5,53	$3,3 \pm 0,3$	33,2
60		271,31	3,98	$7,9 \pm 0,3$	59,3
61		264,32	2,26	>50	$>189,2$
62		269,30	2,00	>50	$>185,7$
63		264,32	2,38	>50	$>185,6$
65		279,40	2,39	>50	136,4
67		258,71	3,51	>50	$>185,7$
68		266,29	3,10	>50	159,2
70		241,24	2,76	>50	26,11

Die Bestimmung der Zytotoxizität erfolgte durch H.-M. DAHSE^j in einem Proliferations-Assay an HeLa-Zellen. Die im zellbasierten Assay antiplasmodial wirksame Verbindung **60** zeigt hier erst im höheren mikromolaren Konzentrationsbereich ($CC_{50} = 59,3 \mu\text{M}$) einen zytotoxischen Effekt. Für Triclosan (**29**) wurde eine CC_{50} von $33,2 \mu\text{M}$ gemessen.

Im Rahmen dieser Arbeit stand keine Möglichkeit zur Verfügung, die Wirkung der synthetisierten Verbindungen auf die PfENR zu testen. Da jedoch, wie bereits beschrieben, die ENR von *T. gondii* eine hohe Homologie zum analogen Enzym in *P. falciparum* aufweist, lässt sich die TgENR als ein Modell für die inhibitorische Wirkung von potenziellen Inhibitoren auf die PfENR verwenden. Die Testung der synthetisierten Wirkstoffe im TgENR-Enzym-Assay erfolgte durch G. AFANADOR^k. Die prozentuale Inhibition der Enzymaktivität durch die entsprechende Verbindung in einer Konzentration von $1 \mu\text{M}$ ist in Abbildung 55 dargestellt.

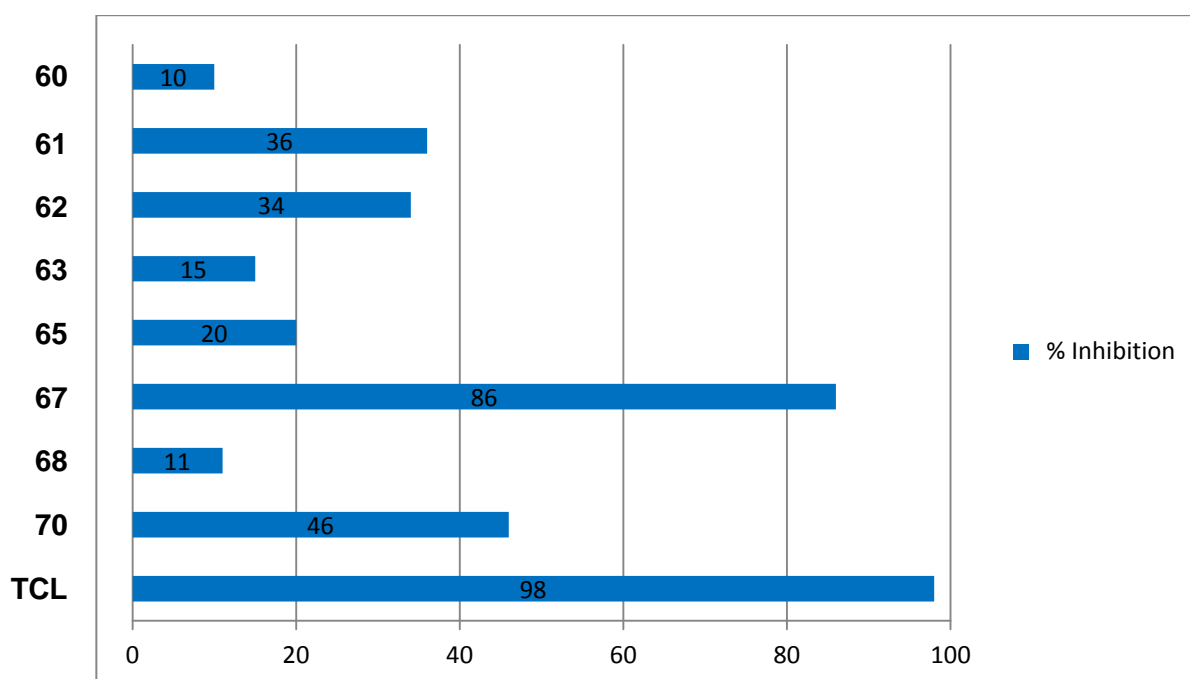


Abbildung 55: Inhibition der TgENR in %. Die Konzentration der Verbindungen im Assay war $1 \mu\text{M}$. TCL: Triclosan, 98 %. Assay: G. AFANADOR.

Die stärkste inhibitorische Wirkung auf das TgENR-Enzym zeigt das Benzotriazolderivat **67** (86 %). Diese Verbindung ist aber weder im zellbasierten Proliferations-Assay gegen *T. gondii* wirksam, noch zeigt es den gewünschten *off-target* Effekt auf kultivierte *P. falciparum* im Blutstadium. Daher wurde von einer weiteren Entwicklung dieser Verbindungsklasse abgesehen. Das zuvor als wirksam gegen intraerythrozytäre *P. falciparum* identifizierte Salicylsäureamidderivat **60** zeigt keine messbare Wirkung auf das Enzym (10 %). Dennoch wurde im

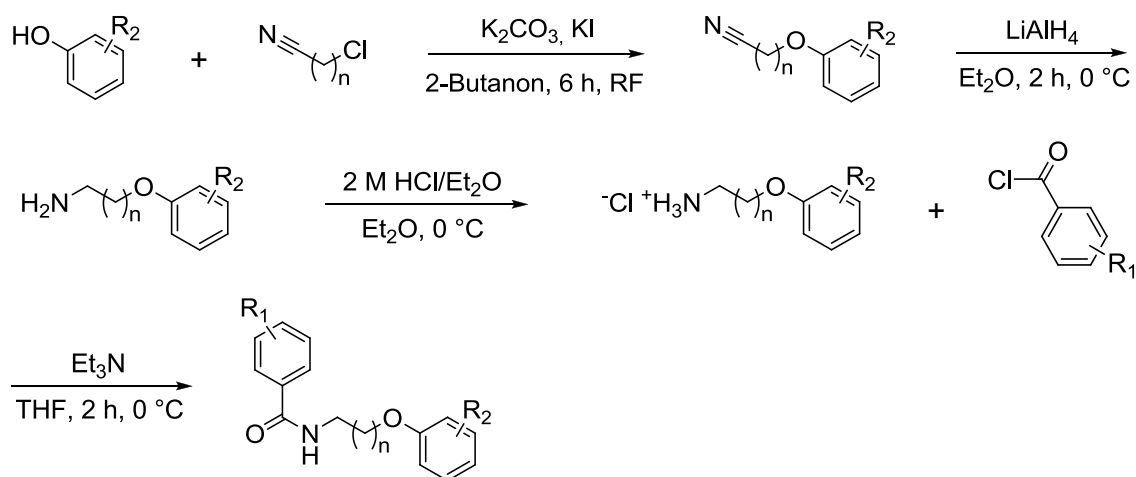
^j Leibniz-Institut für Naturstoff-Forschung und Infektionsbiologie - Hans-Knöll-Institut

^k Arbeitsgruppe von Prof. Dr. PRIGGE am Department of Molecular Microbiology and Immunology an der Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health

Folgenden untersucht, ob sich durch strukturelle Variation dieser Verbindung eine Wirkung auf das TgENR-Enzym erzielen lässt. Gleichzeitig sollte die Wirksamkeit gegen kultivierte *P. falciparum* gesteigert werden.

A.7.1.4. Kombinatorische virtual library

Da nur die Struktur der PfENR, nicht aber die des *off-targets* im Blutstadium bekannt ist, wurde für die strukturelle Optimierung von **60** eine Kombination aus rationalem Wirkstoffdesign und klassischer, ligandenorientierter medizinischer Chemie angewendet. Möglicherweise wird die Wirkung von **60** im Blutstadium über mehr als ein *target* vermittelt. Dennoch werden diese hypothetischen Bindestellen im Folgenden als „*off-target*“ zusammengefasst.



Schema 10: Allgemeines Syntheschema für Aryloxyalkylbenzamidderivate. Die entsprechenden Carbonsäurechloridderivate wurden kommerziell erworben oder gemäß der AAV hergestellt.

Schema 10 zeigt das entwickelte allgemeine Syntheschema für die Darstellung der im Weiteren beschriebenen Aryloxyalkylbenzamidderivate. Ausgehend von Derivaten der zur Synthese des Salicylamidderivats **60** verwendeten Edukte wurde von S. GLINCA eine kombinatorische *virtual library* erstellt. Hierfür wurden kleine, kommerziell erhältliche Verbindungen miteinander kombiniert, wodurch 430.000 virtuelle Derivate der Ausgangsverbindung **60** entstanden (Abb. 56). Nach mehreren *docking* Prozessen und visueller Inspektion wurde ein *ranking* der verbleibenden Moleküle durchgeführt und auf diese Weise die vielversprechendsten potenziellen Inhibitoren identifiziert.

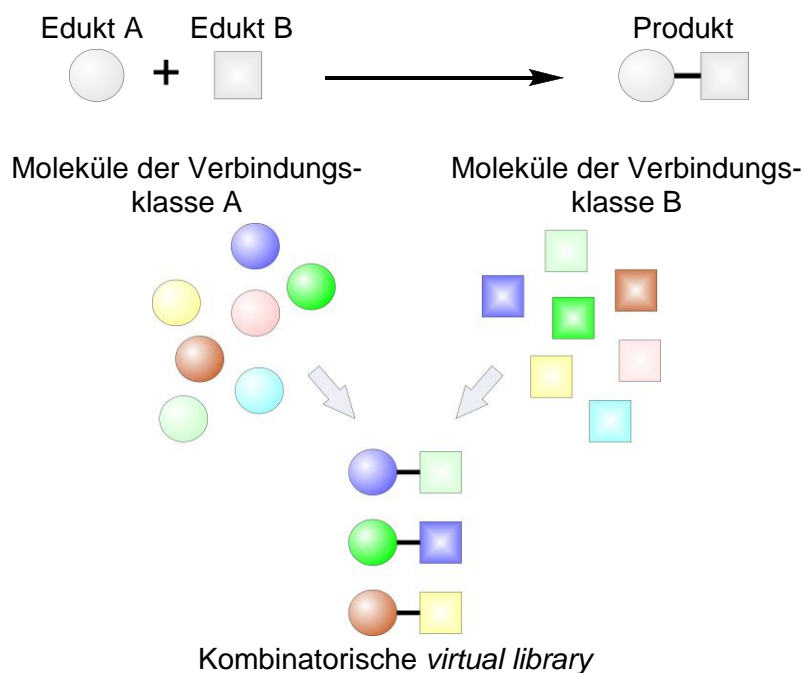


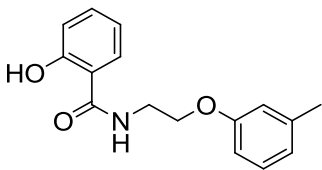
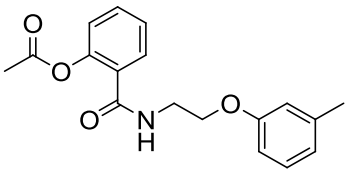
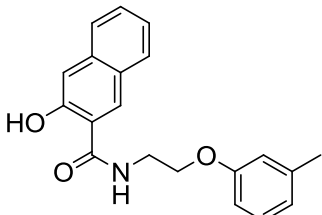
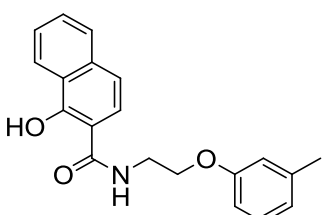
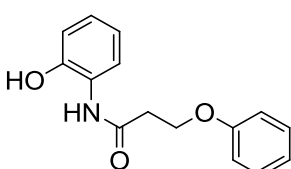
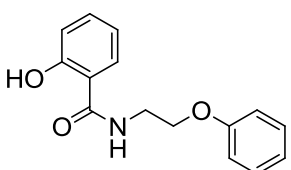
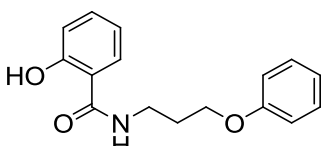
Abbildung 56: Prinzip der kombinatorischen *virtual library*.

Bei der nun folgenden synthetischen Optimierung der Ausgangsverbindung **60** wurden insbesondere solche Derivate synthetisiert, die im *ranking* als wirksam eingeschätzt wurden. Gleichzeitig wurden durch klassische Strukturvariation und anschließender biologischer Testung Struktur-Wirkungs-Beziehungen abgeleitet. Auf diese Weise wurden einerseits strukturelle Merkmale der Ausgangsverbindung **60** identifiziert, die für die Wirkung in den verschiedenen Testsystemen essenziell sind. Andererseits wurde das noch unbekannte *off-target*, das für die Wirkung im Blutstadium von *P. falciparum* verantwortlich ist, charakterisiert.

A.7.1.5. *Strukturelle Variation des Salicylsäureamidderivats 2-Hydroxy-N-(2-(m-tolyloxy)ethyl)benzamid (60)*

Tabelle 6 zeigt die synthetisierten Derivate von **60** sowie die Ergebnisse aus der biologischen Testung. Das Acetylsalicylsäurederivat **77** ist eine synthetische Vorstufe von **60** und ein potenzielles *prodrug* dieser Verbindung. Die *O*-Acetylfunktion kann intrazellulär von Esterasen gespalten werden^[282] und so in die wirksame Verbindung **60** überführt werden. Im zellbasierten Assay ist **77** ($IC_{50} = 7,7 \mu M$) jedoch nicht wirksamer als die Ausgangsverbindung **60** ($IC_{50} = 7,9 \mu M$).

Tabelle 6: Testwerte der Salicylsäurederivate. n.d.: Nicht definiert. Chloroquin: 110 nM. Zytotoxizitätsmessung: H.-M. DAHSE.

		IC ₅₀ (<i>P. falciparum</i>) [μM]	CC ₅₀ (HeLa) [μM]	SI
60		7,9 ± 0,3	59,3	7,5
77		7,7 ± 0,4	66,7	8,7
102		8,4 ± 0,4	133,5	15,9
103		>50	73,1	n.d.
104		>50	178,4	n.d.
105		13,4 ± 0,6	137,2	10,2
106		7,0 ± 0,5	110,9	15,8

Gemäß der *docking*-Lösung (Abb. 53) bindet der aromatische Bereich der Salicylsäurepartialstruktur von **60** in einer hydrophoben Bindetasche, die von Pro231, Ile286 und dem flexiblen Phe285 begrenzt wird. Wie bereits für das Triclosanderivat **40** beschrieben, können hier große hydrophobe Reste binden, indem sie Phe285 verdrängen und hierdurch die Bindetasche vergrößern. Das 3-Hydroxy-2-naphthoesäurederivat **102** zeigt eine nur unwesentlich schlechtere IC₅₀ gegen *P. falciparum* im zellbasierten Assay, das 1-Hydroxynaphthoesäurederivat **103** ist dagegen unwirksam (IC₅₀ >50 μM). Da das *off-target* offenbar in der 4- und 5-Position

der Salicylsäurepartialstruktur Substituenten zumindest ohne Wirkverlust toleriert, wurde diese Positionen weiter derivatisiert.

Um die Bedeutung der Carbonsäureamidfunktion in **60** zu überprüfen, wurde das Phenoxyessigsäurederivat **104** synthetisiert. Da **104** jedoch unwirksam ist, ($IC_{50} > 50 \mu M$) wurde an dieser Position die ursprüngliche Amidbindung beibehalten. Außerdem wurde die Länge des Alkyl-linkers zwischen den aromatischen Partialstrukturen variiert: Das Phenoxypropylderivat **106** ($IC_{50} = 7,0 \mu M$) ist zwar, verglichen mit dem Phenoxyethylderivat **105** ($IC_{50} = 13,4 \mu M$) etwa um den Faktor zwei wirksamer, weist jedoch keine bessere Wirkung als die Ausgangssubstanz **60** ($IC_{50} = 7,9 \mu M$) auf. Der Wirkverlust von **105** gegenüber der Ausgangsverbindung **60** deutet auf eine hydrophobe Interaktion der Methylgruppe der Krezolpartialstruktur mit dem *off-target*. Da keines der getesteten Salicylsäurederivate im zellbasierten Assay wirksamer als die Ausgangsverbindung **60** ist, wurde die Grundstruktur zunächst beibehalten und in 2-Position der Salicylsäurepartialstruktur variiert

Um den 2-OH-Substituenten der Benzoessäurepartialstruktur als essenziell zu validieren, wurde das unsubstituierte Benzoessäurederivat **107** synthetisiert (Tab. 7). Dieses zeigt im zellbasierten Assay eine IC_{50} von $24,3 \mu M$ und ist damit um den Faktor drei geringer wirksam als die 2-OH-substituierte Ausgangsverbindung **60** ($IC_{50} = 7,9 \mu M$). Da diese Position im Molekül offensichtlich für eine Wirkung gegen Plasmodien im erythrozytären Stadium mitentscheidend ist, wurden weitere, unterschiedlich substituierte Derivate synthetisiert.

Die *docking*-Lösung (Abb. 57) für das Salicylsäureamidderivat **60** zeigt, dass ein 2-Substituent an der Benzoessäurepartialstruktur möglicherweise hydrophobe Wechselwirkungen mit den AS Ile240 und Ala237 eingehen kann.^[272]

Um dies zu überprüfen, wurden 2-fluor- (**108**), 2-chlor- (**109**), 2-trifluormethyl- (**111**) und 2-methoxysubstituierte (**112**) Derivate synthetisiert und zunächst im zellbasierten Assay gegen *P. falciparum* getestet. Gleichzeitig lässt sich über diese Verbindungen bestimmen, ob der 2-OH-Substituent am *off-target* als Wasserstoffbrückendonator oder -akzeptor wirkt, oder

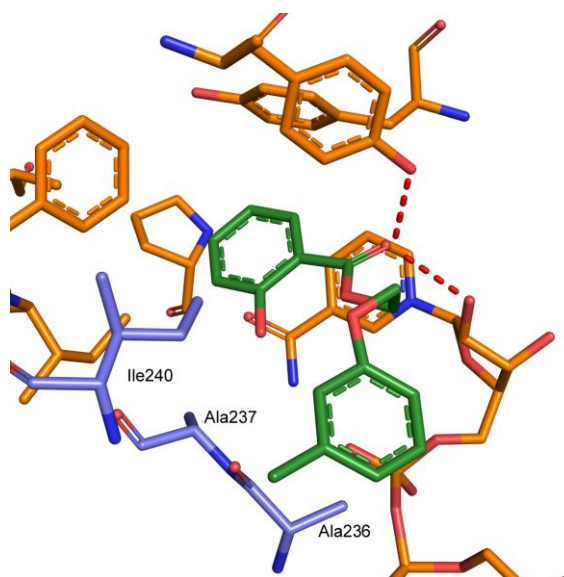


Abbildung 57: *Docking*-Lösung für das Salicylsäureamidderivat **60**. Der 2-OH-Substituent der Benzoessäurepartialstruktur ist in Richtung der hydrophoben AS Ile240, Ala237 und Ala236 (blau) orientiert und geht mit den Seitenketten keine spezifischen Wechselwirkungen ein. *Docking* und Visualisierung mit PyMOL.^[166] S. GLINCA.^[272]

ob die Fähigkeit, Wasserstoffbrücken auszubilden, an dieser Position nicht essenziell ist. Um den Einfluss eines 2- mit dem eines 3-Substituenten zu vergleichen, wurde auch das 3-chlorsubstituierte Benzoesäurederivat **110** synthetisiert und getestet (Tab. 7).

Tabelle 7: Testwerte der Salicylsäurederivate. Chloroquin: 110 nM. Zytotoxizitätsmessung: H.-M. DAHSE.

		IC ₅₀ (<i>P. falciparum</i>) [μM]	CC ₅₀ (HeLa) [μM]	SI
60		7,9 ± 0,3	59,3	7,5
107		24,3 ± 2,2	>195,8	>8,0
108		10,5 ± 0,9	170,0	22
109		7,5 ± 0,5	>172,6	>23,0
110		26,5 ± 0,8	132,9	5,0
111		43,1 ± 1,3	>154,7	>3,6
112		2,5 ± 0,1	120,2	48,1

Die beste Wirkung gegen *P. falciparum* im zellbasierten Assay zeigt das 2-Methoxybenzoesäurederivat **112** (IC₅₀ = 2,5 μM). Da die Methoxygruppe nicht als Wasserstoffbrücken-Donor wirken kann, ist diese Eigenschaft an dieser Position im Molekül nicht essenziell. Die 2-chlor- (**109**, IC₅₀ = 7,5 μM) und 2-fluorsubstituierten (**108**, IC₅₀ = 10,5 μM) Derivate zeigen eine ähnliche Wirkung wie die OH-substituierte Ausgangsverbindung **60** (IC₅₀ = 7,9 μM). Die

2-trifluormethylsubstituierte Verbindung **111** ist jedoch deutlich weniger aktiv ($IC_{50} = 43,1 \mu M$). Diese Ergebnisse sprechen auch gegen eine Funktion des 2-Substituenten als Wasserstoffbrückenakzeptor.

Das 3-chlorsubstituierte Benzoessäurederivat **110** ($IC_{50} = 26,5 \mu M$) ist um mehr als den Faktor drei weniger aktiv als das 2-chlorsubstituierte Derivat **109** und ähnlich wirksam wie das unsubstituierte Derivat **107**. Der 2-Substituent wird daher beibehalten.

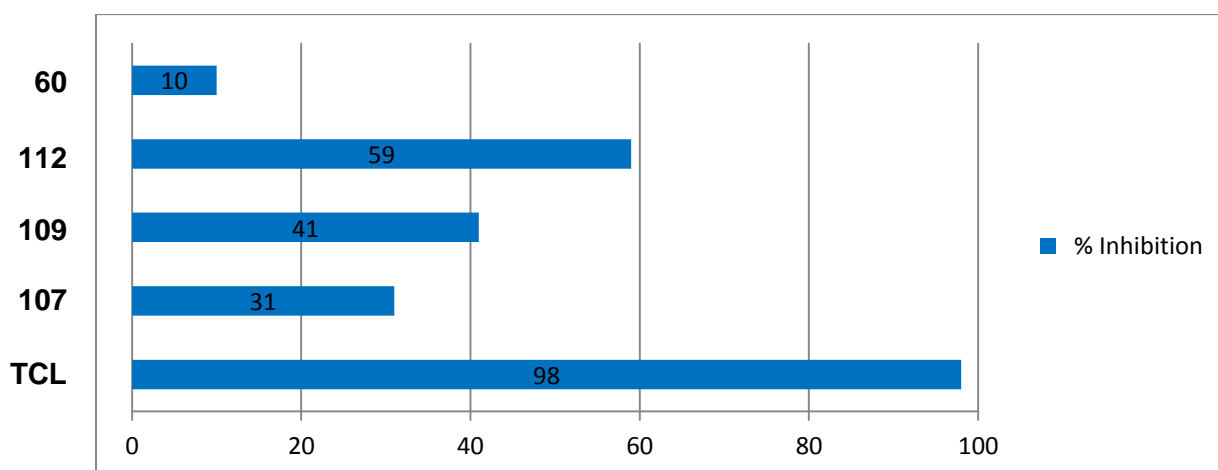


Abbildung 58: Inhibition der TgENR in %. Die Konzentration der Verbindungen im Assay war 1 μM . TCL: Triclosan, 98 %. Assay: G. AFANADOR

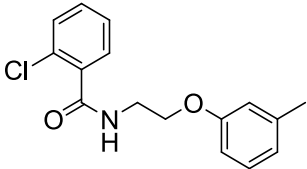
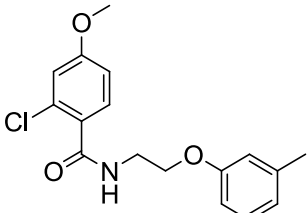
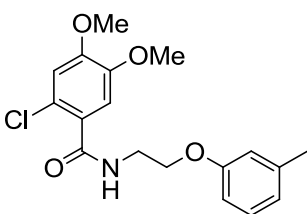
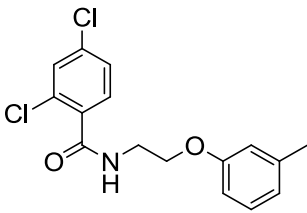
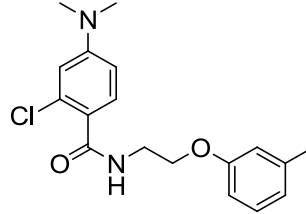
Abbildung 58 zeigt die inhibitorische Wirkung der an der 2-Position derivatisierten Benzamidderivate auf die TgENR. Verglichen mit dem Salicylsäurederivat **60** (10 %), das hier keine Wirkung zeigt, führt eine Substitution der phenolischen OH-Gruppe zu potenten Inhibitoren der TgENR (Abb. 58). Die gemessenen Werte bestätigen die im *docking* berechnete hydrophobe Wechselwirkung an dieser Position: Am aktivsten ist das methoxysubstituierte Derivat **112** (59 %) gefolgt vom chlorsubstituierten Derivat **109** (41 %). Das unsubstituierte Benzoessäurederivat **107** (31 %) ist um den Faktor drei wirksamer als das Salicylsäurederivat **60**.^[283]

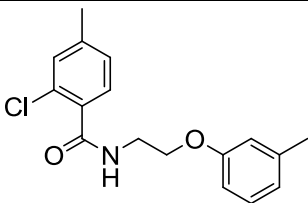
Diese Ergebnisse zeigen, dass sich die Verbindungsklasse der Aryloxyalkylbenzamide eignet, sowohl die ENR als auch das *off-target* im Blutstadium von *P. falciparum* zu inhibieren. Da das 2-Methoxybenzoessäurederivat **112** erst gegen Ende dieser Arbeit biologisch getestet werden konnte, wurde die 2-Chlorbenzoessäurepartialstruktur für die weitere strukturelle Optimierung übernommen.

A.7.1.6. Strukturelle Variation des 2-Chlorbenzoesäurederivats 2-Chlor-N-(2-(*m*-tolylloxy)ethyl)benzamid (**109**)

Die *docking*-Lösung für das 2-Chlorbenzoesäurederivat **109** zeigt mögliche hydrophobe Wechselwirkungen von 4- und 5-Substituenten der Benzoesäurepartialstruktur mit den AS Phe285, Ile286 und Pro231. Um zu testen, ob sich durch derartige Substituenten die Aktivität der Ausgangsverbindung **109** steigern lässt, wurde das 4-methoxy- (**113**), 3,4-dimethoxy- (**114**), 4-chlor- (**115**), 4-dimethylamino- (**116**) und 4-methylsubstituierte (**117**) Benzoesäurederivat synthetisiert (Tab. 8). Im zellbasierten Assay zeigt jedoch keines der genannten Derivate eine Wirkung gegen *P. falciparum*. Auffällig ist hier insbesondere der vollständige Wirkungsverlust der Verbindung **117** ($IC_{50} > 50 \mu M$), die sich von der Ausgangsverbindung **109** ($IC_{50} = 7,5 \mu M$) nur durch einen Methylsubstituenten unterscheidet.

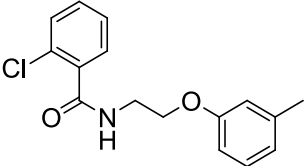
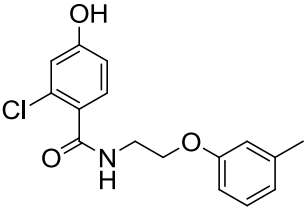
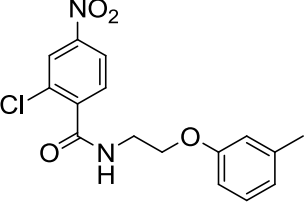
Tabelle 8: Testwerte von 2-Chlorbenzoesäurederivate. n.d.: Nicht definiert Chloroquin: 110 nM. Zytotoxizitätsmessung: H.-M. DAHSE.

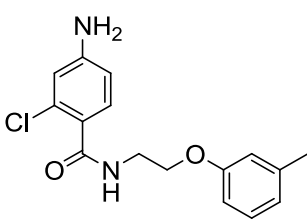
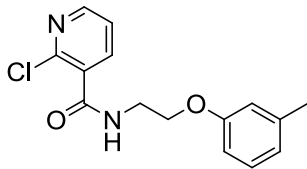
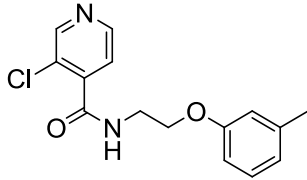
		IC_{50} (<i>P. falciparum</i>) [μM]	CC_{50} (HeLa) [μM]	SI
109		$7,5 \pm 0,5$	$>172,6$	$>23,0$
113		>50	$>156,4$	n.d.
114		>50	$>142,9$	n.d.
115		>50	$124,6$	n.d.
116		>50	$117,5$	n.d.

		IC ₅₀ (<i>P. falciparum</i>) [μM]	CC ₅₀ (HeLa) [μM]	SI
117		>50	154,1	n.d.

Um die Wirkung polarer Substituenten in 4-Position der Benzoessäurepartialstruktur auf das *off-target* zu überprüfen, wurde das 4-hydroxy- (**118**), 4-nitro (**119**)- und 4-aminosubstituierte (**120**) Benzoessäurederivat synthetisiert (Tab. 9). Das 2-Chlornikotinsäure- (**121**) sowie das 3-Chlorisonikotinsäurederivat **122** zeichnen sich, wie auch das 4-nitrosubstituierte Derivat **119**, durch eine herabgesetzte Elektronendichte am aromatischen Ring der Benzoessäurepartialstruktur aus. Diese Elektronenmangelaromaten führen bei den entsprechenden drei Verbindungen zu einem Wirkungsverlust (IC₅₀ ≥ 50 μM). Die hydroxy- (**118**) und aminosubstituierten (**120**) Verbindungen führen jedoch nur zu einem moderaten Wirkverlust im zellbasierten Assay gegen *P. falciparum*. Beide Substituenten erhöhen die Elektronendichte am Aromaten der Benzoessäurepartialstruktur, können aber auch, anders als die Nitrofunktion, als Wasserstoffbrücken-Donoren wirken.

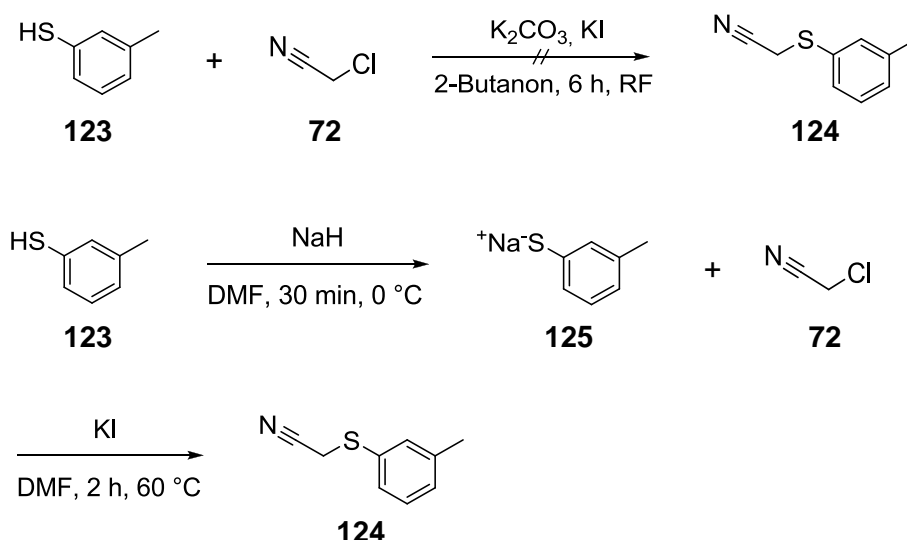
Tabelle 9: Testwerte der 2-Chlorbenzoessäurederivate. Chloroquin: 110 nM. Zytotoxizitätsmessung: H.-M. DAHSE.

		IC ₅₀ (<i>P. falciparum</i>) [μM]	CC ₅₀ (HeLa) [μM]	SI
109		7,5 ± 0,5	>172,6	>23,0
118		17,8 ± 1,0	119,4	6,7
119		50,0 ± 0,8	>149,4	>3,0

120		$10,5 \pm 0,8$	$>164,1$	$>15,6$
121		>50	$>172,0$	-
122		>50	$>172,0$	-

Eine verringerte Elektronendichte im Bereich der Benzoessäurepartialstruktur führt offensichtlich zu einem Wirkungsverlust gegen erythrozytäre *P. falciparum*. Außerdem bewirken bereits kleine strukturelle Änderungen, wie etwa die formale Einführung einer Methylgruppe in 4-Position, einen kompletten Wirkungsverlust. Keines der synthetisierten und getesteten Derivate des 2-Chlorbenzoessäurederivats **109** zeigte eine Wirkungssteigerung gegen erythrozytäre Malariaerreger. Von einer weiteren Derivatisierung an dieser Position wurde daher abgesehen.

Als nächstes wurde die Aryloxyethylpartialstruktur der Ausgangsverbindung **109** variiert (Tab. 10). Die formale Substitution gegen eine Thioetherfunktion führte zur Verbindung **126**. Zur Darstellung dieses Derivats gelang es nicht, die synthetische Vorstufe 2-(*m*-Tolylsulfanyl)acetonitril (**124**) nach dem sonst verwendeten allgemeinen Syntheschema 10 zu erhalten. Stattdessen wurde zunächst das Natriumthiokresolatderivat **125** durch Umsetzung von *m*-Thiokresol (**123**) mit Natriumhydrid in stöchiometrischen Mengen *in situ* dargestellt. Im Anschluss wurde 2-Chloracetonitril (**72**) nukleophil substituiert (Schema 11).



Schema 11: Syntheschema für 2-(*m*-Tolylsulfanyl)acetonitril **124**.

Das *m*-Tolylsulfanylderivat **126** zeigte jedoch im zellbasierten Assay gegen *P. falciparum* eine um den Faktor vier geringere Wirkung ($IC_{50} = 32,0 \mu M$) als die Ausgangsverbindung **109** ($IC_{50} = 7,5 \mu M$). Zusätzlich steigt die Zytotoxizität um den Faktor drei. Von der Synthese weiterer Thioetherderivate wurde daher abgesehen.

Das Phenylbutylderivat **127** weist kein Etherfunktion im *linker* zwischen den Aryleinheiten auf. Die Wirkung gegen *P. falciparum* ist um den Faktor fünf geringer ($IC_{50} = 41,7 \mu M$) als die des Arylalkyletherderivats **109**. Im Benzyloxyethylderivat **128** besitzt der Benzylrest zum einen eine höhere konformative Freiheit als die Phenoxypartialstruktur der übrigen Verbindungen. Zum anderen sind die elektronischen Eigenschaften des Aromaten verändert, da dieser nun Alkyl- und nicht mehr *O*-alkylsubstituiert ist. Im zellbasierten Assay gegen *P. falciparum* führt auch dies zum Wirkungsverlust ($IC_{50} > 50 \mu M$). Um zu den Verbindungen **127** und **128** zu gelangen, wurden die jeweiligen Aminoderivate kommerziell erworben und gemäß Schema 10 mit 2-Chlorbenzoesäurechlorid **131** umgesetzt.

Tabelle 10: Testwerte der 2-Chlorbenzoesäurederivate. Chloroquin: 110 nM. Zytotoxizitätsmessung: H.-M. DAHSE.

		IC_{50} (<i>P. falciparum</i>) [μM]	CC_{50} (HeLa) [μM]	SI
109		$7,5 \pm 0,5$	$>172,6$	$>23,0$
126		$32,0 \pm 1,5$	60,8	1,9

		IC ₅₀ (<i>P. falciparum</i>) [μM]	CC ₅₀ (HeLa) [μM]	SI
127		41,7 ± 1,5	>173,7	4,1
128		>50	-	-
129		32,6 ± 1,7	127,9	3,9
130		>50 ± 1,3	113,7	-

Der Ethyl-*linker* der Ausgangsverbindung **109** erlaubt dem Molekül eine große Zahl an konformativen Freiheitsgraden. Eine Reduktion dieser Freiheitsgrade, z. B. durch ein starres Ringsystem (Rigidisierung), ermöglicht es der Verbindung, nur noch wenige Konformationen einzunehmen. Falls diese Konformationen die Bindung an die Zielstruktur erlaubt, lässt sich durch einen entropischen Gewinn die Aktivität des Inhibitors beträchtlich steigern.^[1]

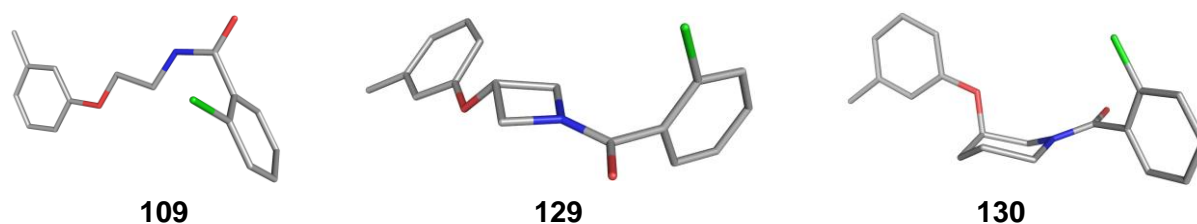
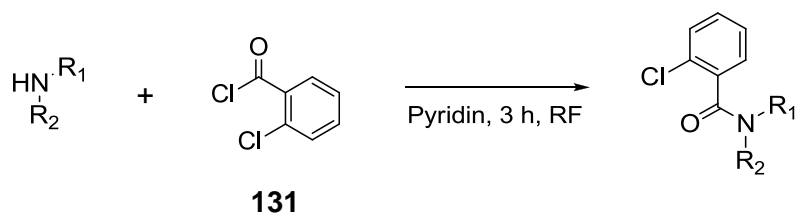


Abbildung 59: Chemische Strukturen des Azetidin (129)- und Piperidinderivats (130, nur ein Stereoisomer dargestellt). Visualisiert mit PyMOL.^[166]

Um die Ausgangsverbindung **109** zu diesem Zweck zu rigidisieren, wurde der Alkyl-*linker* formal gegen einen 1,3-disubstituierten Azetidinzyklus (Verbindung **129**) und gegen einen 1,3-disubstituierten Piperidinzyklus (Verbindung **130**) ausgetauscht (Abb. 59). Diese Verbindungen wurden gemäß Schema 12 aus kommerziell erworbenen Aminoderivaten und 2-Chlorbenzoesäurechlorid (**131**) synthetisiert. Bei der Darstellung des 1,3-disubstituierten Piperidinderivats **130** wurde die chirale Aminkomponente als Razemat verwendet und das Produkt bezüglich seiner razemischen Zusammensetzung nicht charakterisiert oder getrennt.



Schema 12: Allgemeines Syntheschema für *N,N*-disubstituierte 2-Chlorbenzoesäurederivate.

Im zellbasierten Assay führt dies für beide Verbindungen zu einem deutlichen Wirkungsverlust. Offensichtlich können sowohl **129** ($IC_{50} = 32,6 \mu M$) als auch **130** ($IC_{50} > 50 \mu M$) nicht die zur Bindung an die Zielstruktur geeignete Konformation einnehmen (Tab. 10).

Durch Derivatisierung des Oxyethyl-*linkers* der Ausgangsverbindung **109** konnte keine Aktivitätssteigerung gegen erythrozytäre *P. falciparum* erreicht werden. Daher wurde im Folgenden die ursprüngliche Partialstruktur beibehalten.

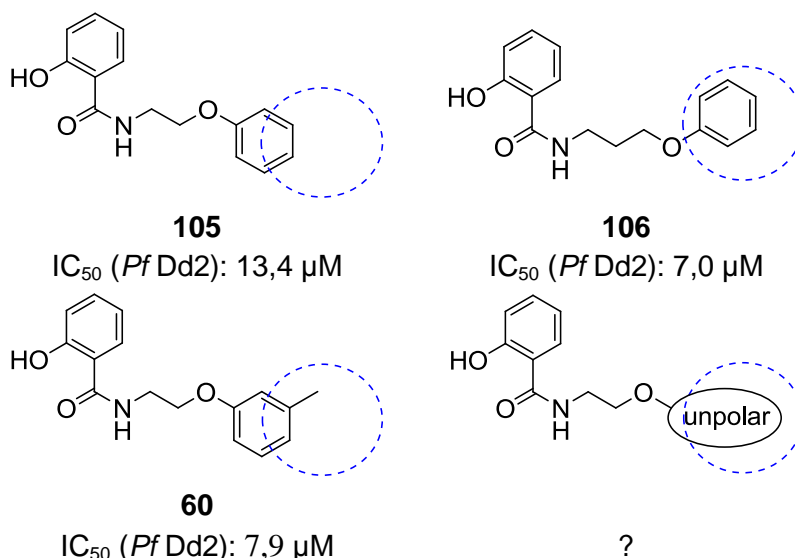


Abbildung 60: Hydrophober *hotspot* (blau) einer hypothetischen Zielstruktur im erythrozytären Stadium von *P. falciparum*.

Die Testergebnisse der Salicylsäurederivate legen nahe, dass die Zielstruktur im erythrozytären Stadium im Bereich der Aryloxypartialstruktur einen hydrophoben *hotspot* aufweist. Fehlt dem Inhibitor an dieser Position die 3-Methylgruppe (**105**, $IC_{50} = 13,4 \mu M$), sinkt die Aktivität gegen *P. falciparum* um den Faktor zwei im Vergleich zum *m*-Tolylderivat **60** ($IC_{50} = 7,9 \mu M$). Das unsubstituierte Phenoxypropylderivat **106** dagegen zeigt keinen Wirkungsverlust. Möglicherweise kann diese Verbindung, im Gegensatz zum Phenoxyethylderivat **105**, in hydrophoben Bereichen einer hypothetischen Zielstruktur binden. Dieser Überlegung nach müssten hier größere unpolare Reste, kombiniert mit dem Ethyl-*linker*, zu einer Aktivitätssteigerung führen (Abb. 60).

Auch *docking*-Studien ergaben an dieser Stelle des Moleküls Interaktionsmöglichkeiten für große hydrophobe Substituenten mit den AS Val139, Met198, Ala136 und Asn135. Das *ranking* des *docking*-Programms zeigte insbesondere für Naphthoxyderivate eine verbesserte Affinität zum Enzym (Abb. 61). Entsprechend wurde das 4-isopropylphenoxy- (**132**), 5,6,7,8-tetrahydronaphthoxy (**133**) und 2-naphthoxysubstituierte (**134**) Derivat synthetisiert und zunächst im zellbasierten Assay gegen *P. falciparum* getestet.

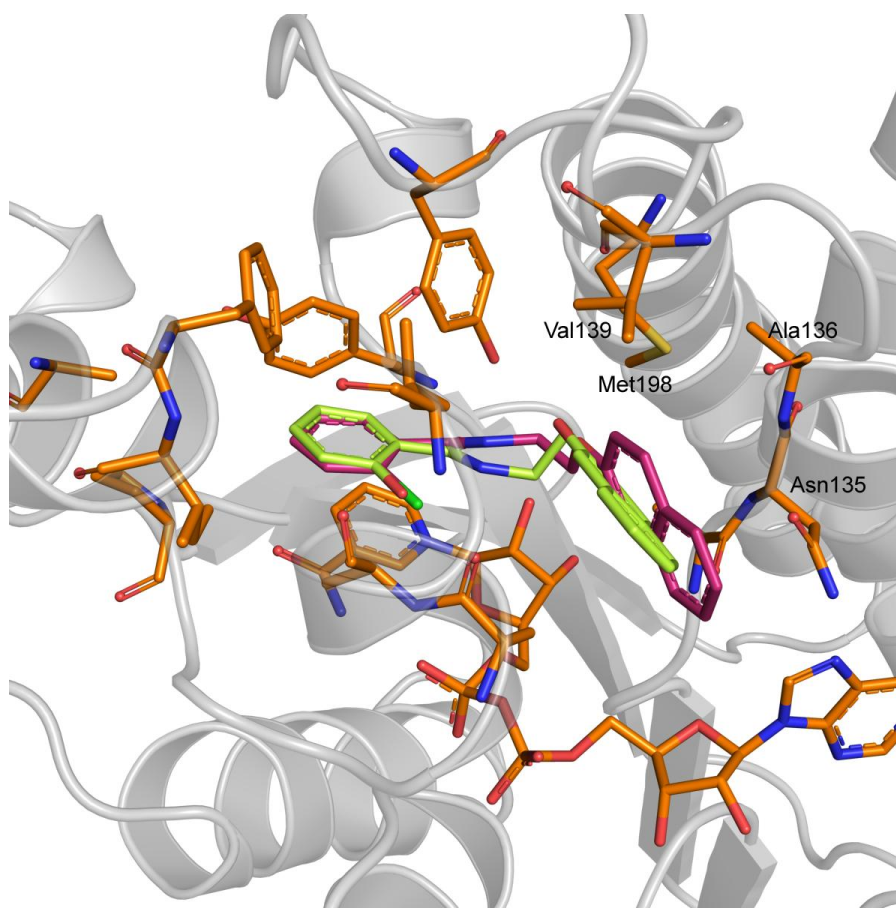


Abbildung 61: *Docking*-Lösung für die 2-Naphthoxyderivate **134** (violett) und **136** (grün). *Docking* und Visualisierung mit PyMOL.^[166] S. GLINCA.^[272]

Während das isopropylsubstituierte Derivat **132** mit einer IC_{50} von 22,0 μM etwa um den Faktor drei weniger aktiv ist als die Ausgangsverbindung **109** ($IC_{50} = 7,5 \mu M$), steigt die Wirksamkeit des Tetrahydronaphthoxyderivats **133** um den Faktor drei auf 2,5 μM . Gleichzeitig erhöht sich jedoch auch die Zytotoxizität auf 60,1 μM , sodass sich ein SI von 24,4 ergibt. Das 2-Naphthoxyderivat **134** zeigt gegen kultivierte *P. falciparum* eine IC_{50} von 1,7 μM , was eine weitere geringfügige Verbesserung gegenüber dem Tetrahydronaphthoxyderivat **133** und eine Steigerung um etwa den Faktor vier gegenüber der Ausgangsverbindung **109** bedeutet. Die Zytotoxizität von **134** ($CC_{50} = 89,6 \mu M$) gegen HeLa-Zellen ist dabei geringer als die des Tetrahydronaphthoxyderivats **133**, sodass sich ein SI von 52,7 ergibt. Somit

stellt das 2-Naphthoxyderivat **134** das gegen intraerythrozytäre *P. falciparum* wirksamste Aryloxyalkylbenzamidderivat aus dieser Arbeit dar (Tab. 11).

Tabelle 11: Testwerte der 2-Chlorbenzoesäurederivate. Chloroquin: 110 nM. Zytotoxizitätsmessung: H.-M. DAHSE.

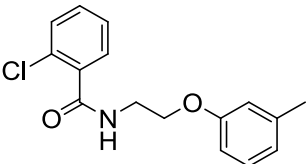
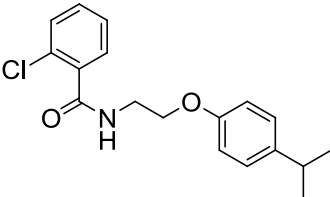
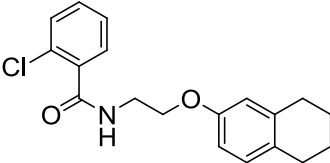
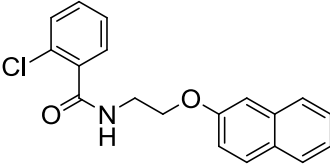
		IC ₅₀ (<i>P. falciparum</i>) [μM]	CC ₅₀ (HeLa) [μM]	SI
109		7,5 ± 0,5	>172,6	>23,0
132		22,0 ± 0,5	105,4	4,8
133		2,5 ± 0,1	60,1	24,4
134		1,7 ± 0,1	89,6	52,7

Abbildung 62 zeigt die inhibitorische Wirkung des 2-Naphthoxyderivats **134** auf das TgENR-Enzym. In Übereinstimmung mit den Berechnungen aus dem *docking* ist **134** (58 %) auch im Enzym-Assay wirksamer als die Ausgangsverbindung **109** (41 %).^[283]

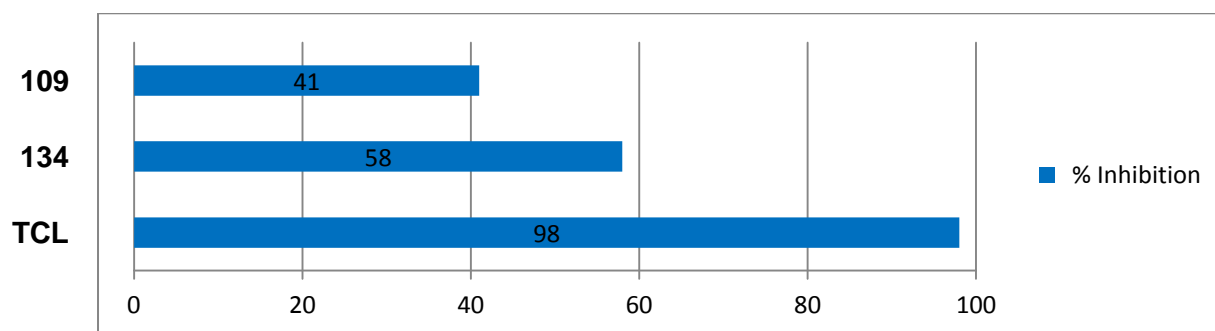


Abbildung 62: Inhibition der TgENR in %. Die Konzentration der Verbindungen im Assay war 1 μM. TCL: Triclosan, 98 %. Assay: G. AFANADOR.

A.7.1.7. *Synthese und biologische Evaluierung von 2-Naphthoxyethylbenzamidderivaten*

Die vorangegangenen Untersuchungen zeigten für das 2-Naphthoxyderivat **134** sowohl im Enzym- als auch im zellbasierten Assay eine höhere Aktivität als für das *m*-Tolyloxyderivat **109**. Außerdem wurden 2-Methoxy- (**112**) und 2-Hydroxybenzoesäureamide (**60**) als aktivitätsteigernde Strukturelemente identifiziert. Daher wurde nun die 2-Naphthoxypartialstruktur formal mit dem Benzoesäure-Strukturelement von **60** sowie **112** kombiniert (Abb. 63).

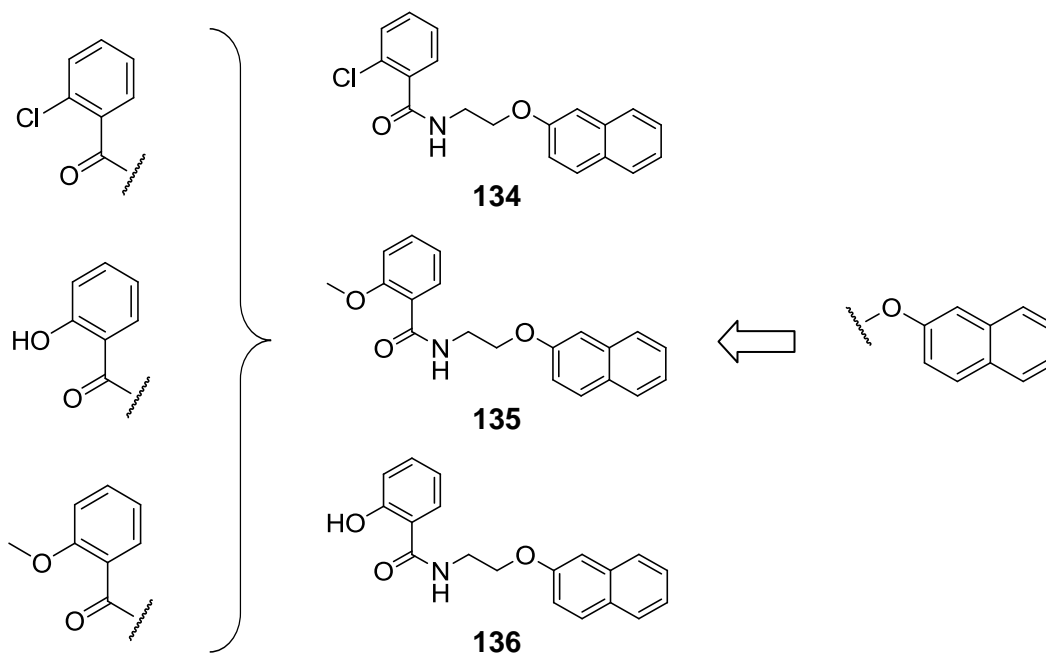
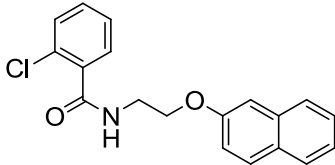
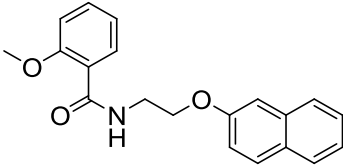
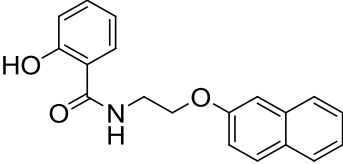
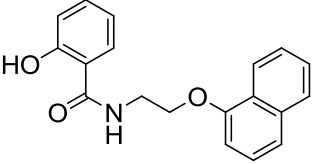
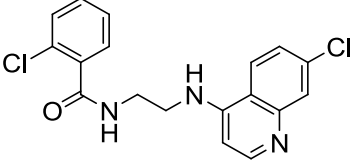


Abbildung 63: Chemische Strukturen der synthetisierten 2-Naphthoxyethylaminderivate 134-136.

Entsprechend wurde ein *N*-(2-Naphthoxyethyl)substituiertes Salicylsäurederivat **136** und 2-Methoxybenzoesäurederivat **135** synthetisiert (Tab. 12). **136** hemmt das Wachstum erythrozytärer *P. falciparum* *in vitro* mit einer IC_{50} von 3,0 μM . Damit ist die Verbindung hier mehr als doppelt so aktiv wie das *m*-Tolyloxy-Analogon **60** (IC_{50} = 7,9 μM) und stellt so das gegen *P. falciparum* wirksamste Salicylsäurederivat im Rahmen dieser Arbeit dar.

Tabelle 12: Testwerte der 2-Naphthoxyethylderivate. Chloroquin: 110 nM. Zytotoxizitätsmessung: H.-M. DAHSE. NV: Kein Wert verfügbar.

		IC ₅₀ (<i>P. falciparum</i>) [μM]	CC ₅₀ (HeLa) [μM]	SI
134		1,7 ± 0,1	89,6	52,7
135		NV	59,7	NV
136		3,0 ± 0,2	>162,7	>54,2
137		25,0 ± 1,8	19,5	0,8
138		0,48 ± 0,05	122,1	255

Für das 1-Naphthoxyisomer **137** wurde im *docking* ebenfalls eine hohe Affinität zur *PfENR* berechnet. Die hierbei energetisch günstigste Lösung für den Bindungsmodus an die *PfENR* zeigt Abbildung 64. Dieses Derivat wurde ebenfalls synthetisiert und im zellbasierten Assay gegen *P. falciparum* getestet. Die Aktivität von **137** (IC₅₀ = 25,0 μM) gegen *P. falciparum* ist jedoch deutlich geringer als die des 2-Naphthoxyisomers **136** (IC₅₀ = 3,0 μM). Die Zytotoxizität von **137** (CC₅₀ = 19,0 μM) steigt dagegen deutlich um mehr als den Faktor acht. Für das Methoxybenzoesäurederivat **135** steht eine Messung der Aktivität gegen *P. falciparum* noch aus. **138** enthält formal sowohl die z. B. aus Chloroquin (**1**) bekannte 4-Aminochinolin-, als

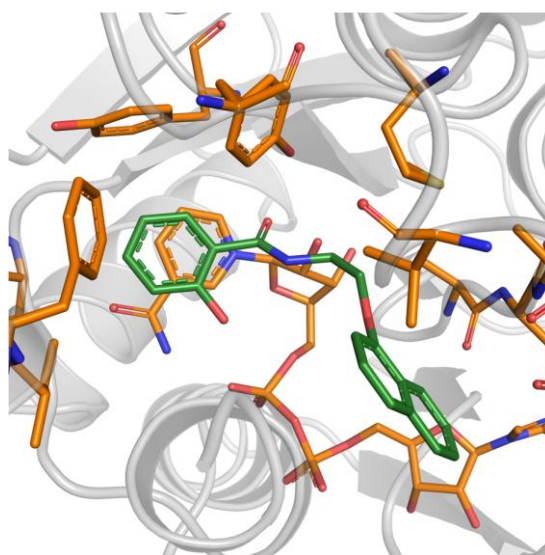


Abbildung 64: Dockinglösung für das 1-Naphthoxyderivat **137** (grün) aus der kombinatorischen *virtual library*. Docking und Visualisierung mit PyMOL:^[166] S. GLINCA.^[272]

auch die 2-Chloro-*N*-ethylbenzamidpartialstruktur. Die Verbindung wirkt im Assay gegen intraerythrozytäre *P. falciparum* mit einer IC_{50} von 0,48 μ M. Da jedoch in Struktur und Wirksamkeit ähnliche Verbindungen bereits literaturbekannt sind,^[284,285] wurde die Optimierung von **138** nicht weiter verfolgt.

Abbildung 65 zeigt die Messwerte für die synthetisierten 2-Naphthoxyethylderivate **135-136** aus dem *Tg*ENR-Assay. Das 2-Methoxybenzoesäurederivat **135** inhibiert die *Tg*ENR in einer Konzentration von 1 μ M um 71 %. Damit stellt die Verbindung den im Rahmen dieser Arbeit aktivsten *Tg*ENR-Inhibitor der Aryloxyalkylamid-Reihe dar. Im Gegensatz zum unwirksamen *m*-Tolyloxy-Analogon **60** (10 %) wurde für das Salicylsäurederivat **136** in diesem Assay eine Inhibition von 36 % gemessen.^[283]

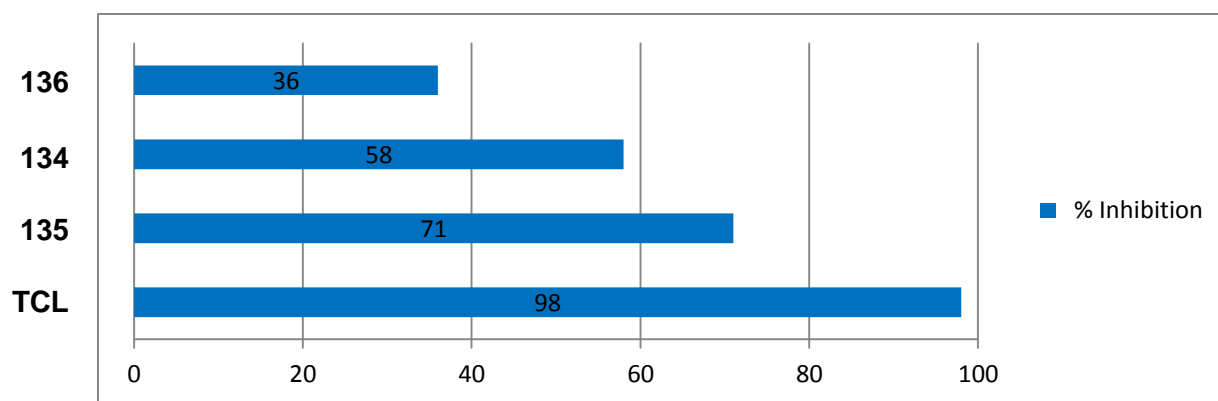


Abbildung 65: Inhibition der *Tg*ENR in %. Die Konzentration der Verbindungen im Assay war 1 μ M. TCL: Triclosan, 98 %. Assay: G. AFANADOR.

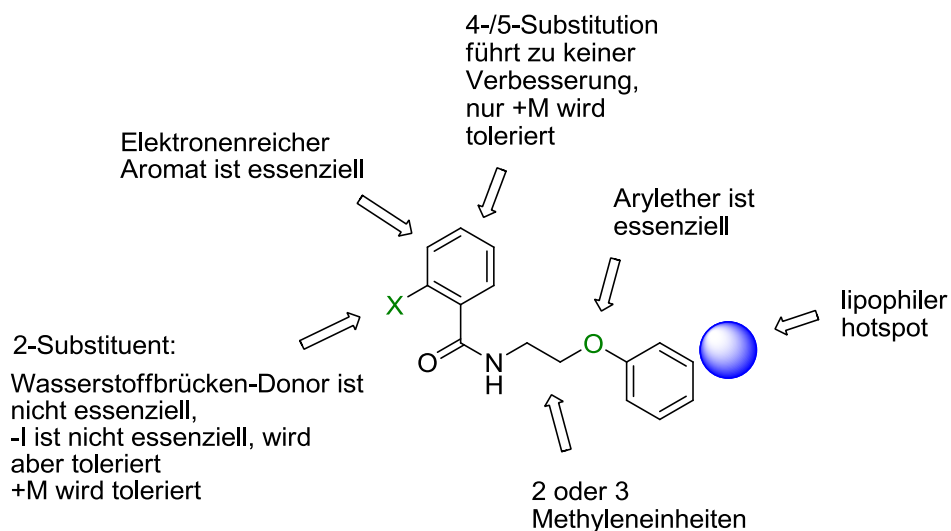


Abbildung 66: Essenzielle Strukturmerkmale der Aryloxyalkylbenzamidderivate.

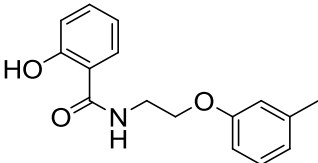
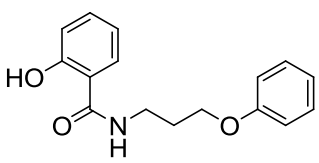
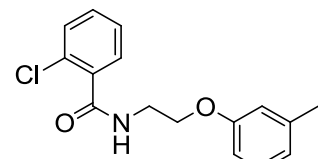
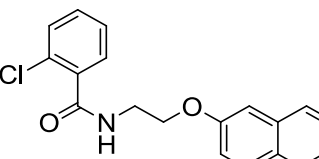
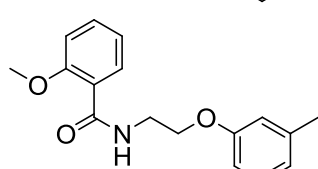
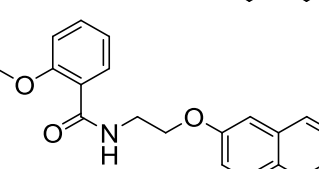
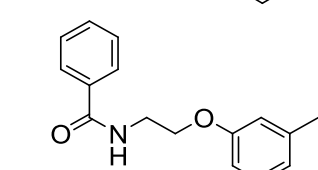
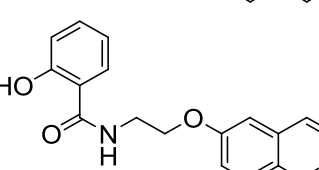
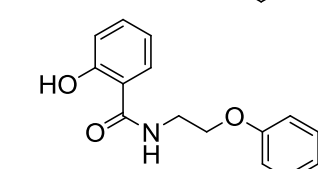
Die bisher erhaltenen Informationen über Struktur-Wirkungsbeziehungen der Aryloxyalkylbenzamidderivate erlauben es, für die Wirkung gegen intraerythrozytäre *P. falciparum* essenzielle Strukturelemente der Verbindungsklasse zu identifizieren (Abb. 66).

A.7.1.8. *Bestimmung der Aktivität der Aryloxyalkylbenzoesäureamidderivate gegen T. gondii*

MAZUMDAR et al.^[228] zeigten 2006, dass Mäuse von einer potenziell tödlichen *T. gondii*-Infektion durch *in vivo knockdown* des einzigen ACP-Gens der Parasiten gerettet werden können. Lässt man außer Acht, dass das ACP möglicherweise weitere Funktionen als die FAS hat,^[286,287] deuten diese Ergebnisse darauf, dass FAS II für *T. gondii* essenziell ist. Demnach sollten solche Verbindungen, die bereits im TgENR Assay als wirksam identifiziert wurden, auch im zellbasierten Assay gegen *T. gondii* effektiv sein. Voraussetzung für eine Wirkung ist jedoch, dass der Inhibitor den Parasiten erreicht. Wie bereits in A.3.2. beschrieben, existieren deutliche Unterschiede in der intrazellulären Lebensweise von *T. gondii* und *P. falciparum*. Dies kann dazu führen, dass ein Wirkstoff eine unterschiedliche Wirksamkeit gegen die beiden Apicomplexa zeigt.

Tabelle 13: Inhibition des Wachstums von *T. gondii* Tachyzoiten und Inhibition der TgENR. Zellbasierter Assay: B. SHIUN, TgENR-Assay: G. AFANADOR.¹Die Konzentration der Wirkstoffe betrug 1 μ M.

IC ₅₀ <i>T. gondii</i> :	0,1-1 μ M	1-10 μ M	>10 μ M
-------------------------------------	---------------	--------------	-------------

		IC ₅₀ (TgENR) [%] ¹			IC ₅₀ (TgENR) [%] ¹
60		10	106		28
109		41	134		58
112		59	135		71
107		31	136		36
105		21			

Für eine Auswahl der bisher synthetisierten Derivate wurde von B. SHIUN¹ im zellbasierten Assay die inhibitorische Wirkung auf das Wachstum von *T. gondii* Tachyzoiten getestet. Die getesteten Wirkstoffkonzentrationen erlauben eine Aussage über die IC₅₀ der Verbindungen in Form folgender Spannweiten: 0,1-1 μ M, 1-10 μ M und >10 μ M. Die gegen *P. falciparum* wirksamen 2-Chlorbenzoesäurederivate **109** und **134** zeigen in diesem Assay keine Wirkung, obwohl sie potente Inhibitoren der TgENR darstellen. Mit einer IC₅₀ unter 1 μ M stellt das 2-Methoxybenzoesäurederivat **135** in diesem Assay die effektivste Verbindung gegen *T. gondii* dar (Tab. 13).

¹ Arbeitsgruppe Prof. Dr. R. L. MCLEOD, The University of Chicago, Department of Surgery, Division of Ophthalmology and Visual Sciences

A.7.1.9. *Bestimmung der Aktivität von 2-Naphthoxyethylderivaten gegen präerythrozytärer Entwicklungsstadien von P. berghei*

Durch klassische strukturelle Optimierung und rationales Wirkstoffdesign konnten mit den 2-Naphthoxyethylbenzamidderivaten eine Klasse von Inhibitoren entwickelt werden, die eine gute Wirksamkeit gegen das TgENR Enzym zeigen. Gleichzeitig sind diese Inhibitoren im zellbasierten Assay gegen *P. falciparum* wirksam, woraus sich u. a. auf eine gute Zellgängigkeit schließen lässt. Damit weisen diese Verbindungen alle Eigenschaften auf, um auch das Wachstum präerythrozytärer Plasmodien zu inhibieren. Für die nachfolgenden Versuche an Sporozoiten und in den Hepatozyten proliferierenden Trophozoiten wurden das 2-Chlorbenzoesäureamid- (**134**) und Salicylsäureamidderivat **136** ausgewählt. Diese Verbindungen stellen unter Berücksichtigung der inhibitorischen Wirkung auf das Wachstum erythrozytärer *P. falciparum* als auch auf die TgENR die aktivsten Inhibitoren dar.

Die Bestimmung der Wirkung gegen präerythrozytäre Stadien erfolgte durch J. SATTLER^m. In diesen Versuchen verwendete *P. berghei* Sporozoiten wurden aus den Speicheldrüsen von *Anopheles stephensi* präpariert. Als Wirtszellen wurden immortalisierte humane Hepatomzellen der Zelllinie Huh7 verwendet. Die Wirkung der Inhibitoren **134** und **136** wurde in zwei verschiedenen Assays zum einen auf das Invasionsverhalten von Sporozoiten, zum anderen auf das Wachstum in den Hepatozyten evaluiert. Die Inhibitoren wurden in den Konzentrationen 0,2 µM, 2 µM und 40 µM getestet. Als Referenz wurde der therapeutisch etablierte Wirkstoff Primaquin (**11**) in einer Konzentration von 10 µM verwendet.

Weder durch Verbindung **134** noch **136** wird die Invasion von *P. berghei* Sporozoiten in die Huh7-Zellen inhibiert oder die Anzahl von Leberstadien reduziert. Das 2-Chlorbenzoesäurederivat **134** zeigt hier erst in einer Konzentration von 40 µM einen Effekt (Abb. 67). Diese Ergebnisse passen zu den Beobachtungen von VAUGHAN et al.^[163] und YU et al.^[162] Hier konnte gezeigt werden, dass *P. yoelii* zwar die ENR im Sporozoiten-Stadium ausgiebig exprimiert.^[163] Weder *fabI-knockout P. yoelii* noch *P. berghei* sind jedoch in ihrer Fähigkeit eingeschränkt, durch Hepatozyten zu migrieren, diese zu infizieren und hier frühe trophozoite Stadien zu bilden. Eine Wirkung von ENR-Inhibitoren auf diese präerythrozytären Stadien von *P. berghei* ist daher nicht zu erwarten.

^m Arbeitsgruppe Dr. MÜLLER, Universitätsklinikum Heidelberg, Dept. für Infektiologie, Parasitologie

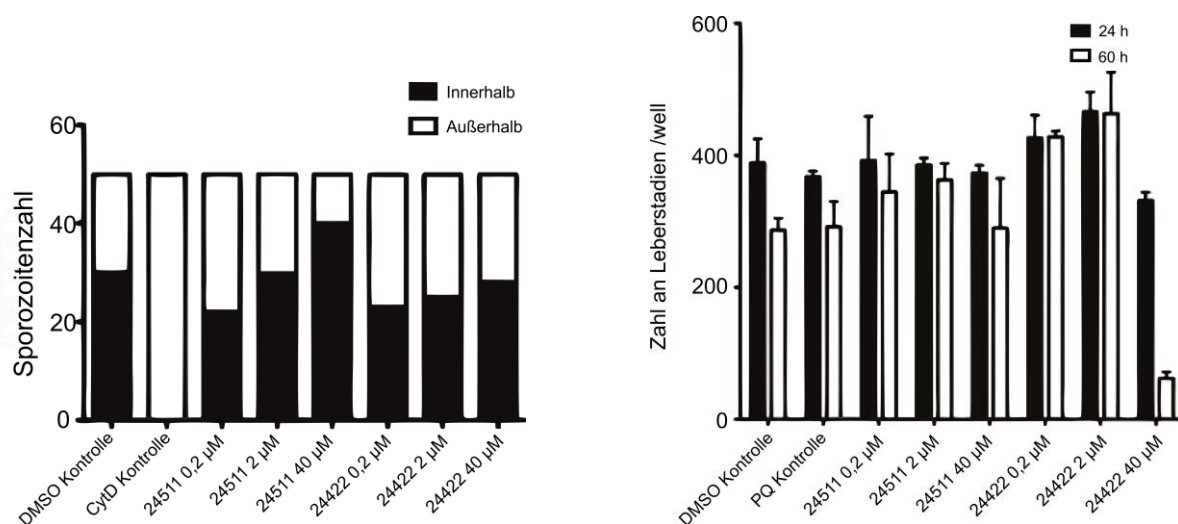


Abbildung 67: Ergebnisse des Sporozoiten-Invasions-Assays. Alle Experimente und Bilder: SATTLER und MÜLLER. Verbindung 24511: 136. 24422: 134.

In einem weiteren Experiment wurden Huh7-Leberkarzinomzellen mit *P. berghei* Sporozoiten infiziert und mit den Verbindungen **134** und **136** in den beschriebenen Konzentrationen versetzt. Nach 24 h und 60 h wurde die Größe der Leberstadien bestimmt. Beide Inhibitoren führen bereits in einer Konzentration von 2 µM zu einer deutlichen Reduktion des Wachstums von Leberstadien (Abb. 68 und 69). Eine ähnliche Wirkung zeigt Primaquin (**11**) erst in einer Konzentration von 10 µM.

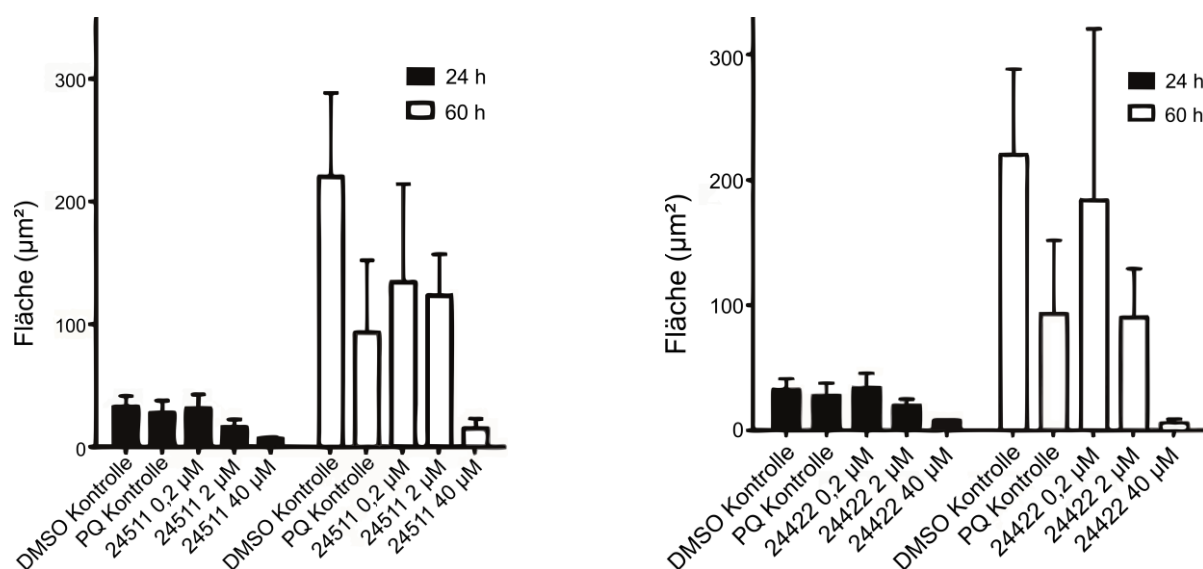


Abbildung 68: Ergebnisse des Leberstadium-Wachstums-Assays. Angegeben ist die durchschnittlich gemessene Fläche der Trophozoiten. Alle Experimente und Bilder: SATTLER und MÜLLER. Verbindung 24511: 136. 24422: 134.

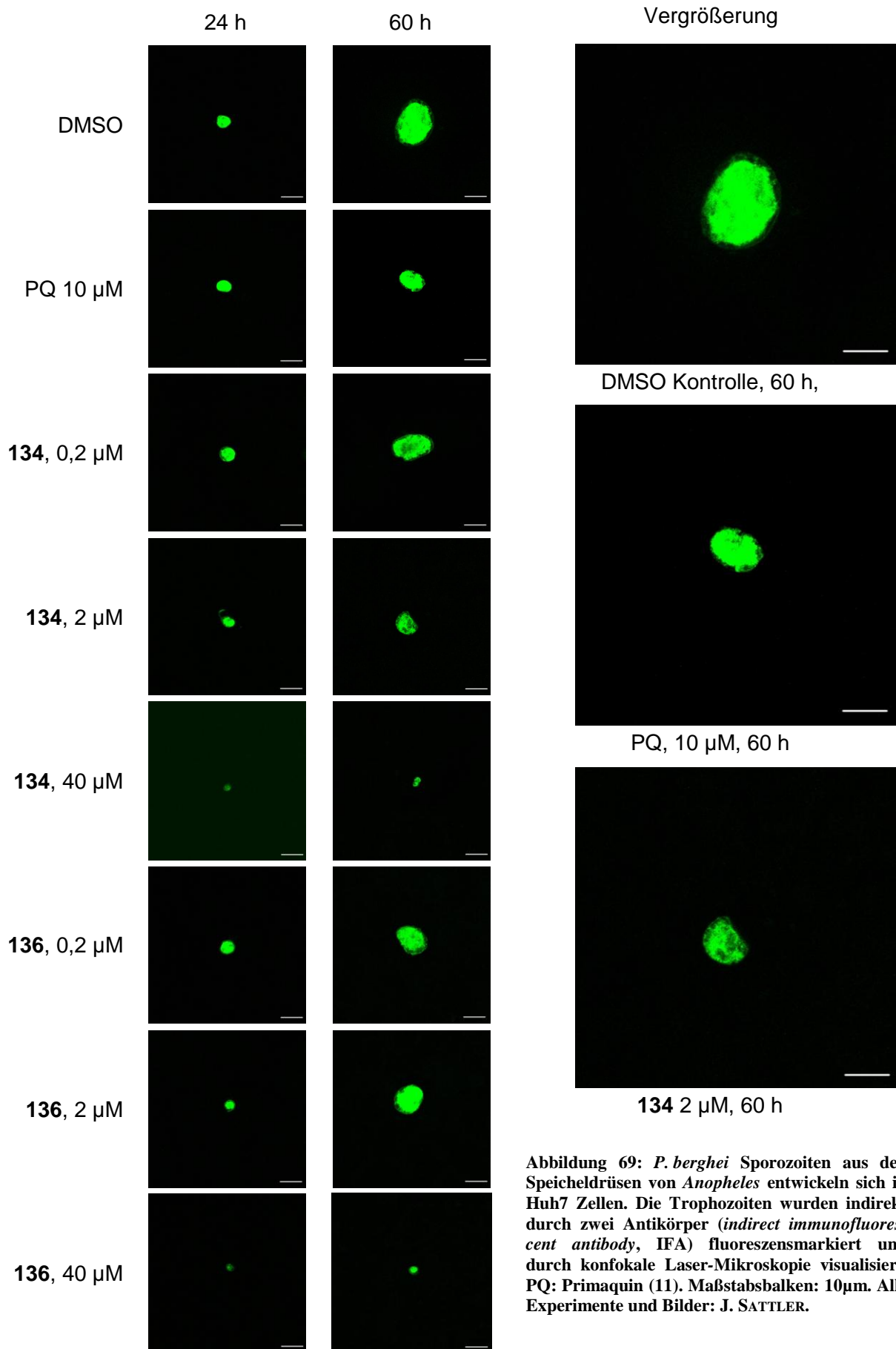


Abbildung 69: *P. berghei* Sporozoiten aus den Speicheldrüsen von *Anopheles* entwickeln sich in Huh7 Zellen. Die Trophozoiten wurden indirekt durch zwei Antikörper (*indirect immunofluorescent antibody*, IFA) fluoreszenzmarkiert und durch konfokale Laser-Mikroskopie visualisiert. PQ: Primaquin (11). Maßstabsbalken: 10 μ m. Alle Experimente und Bilder: J. SATTLER.

Im Gegensatz zu Primaquin (**11**) führt eine Behandlung mit den beiden Inhibitoren **134** und **136** bereits nach 24 h unerwartet zu einem morphologischen Defekt von frühen Leberstadien (Abb. 70). Gleichzeitig ist die Größe dieser Trophozoiten bereits signifikant reduziert (Abb. 68). Wahrscheinlich handelt es sich hierbei um einen *off-target*-Effekt, da für *FabI*-*knockout* Plasmodien ausschließlich eine Hemmung des Wachstums späterer Leberstadien beschrieben ist.^[162,163]

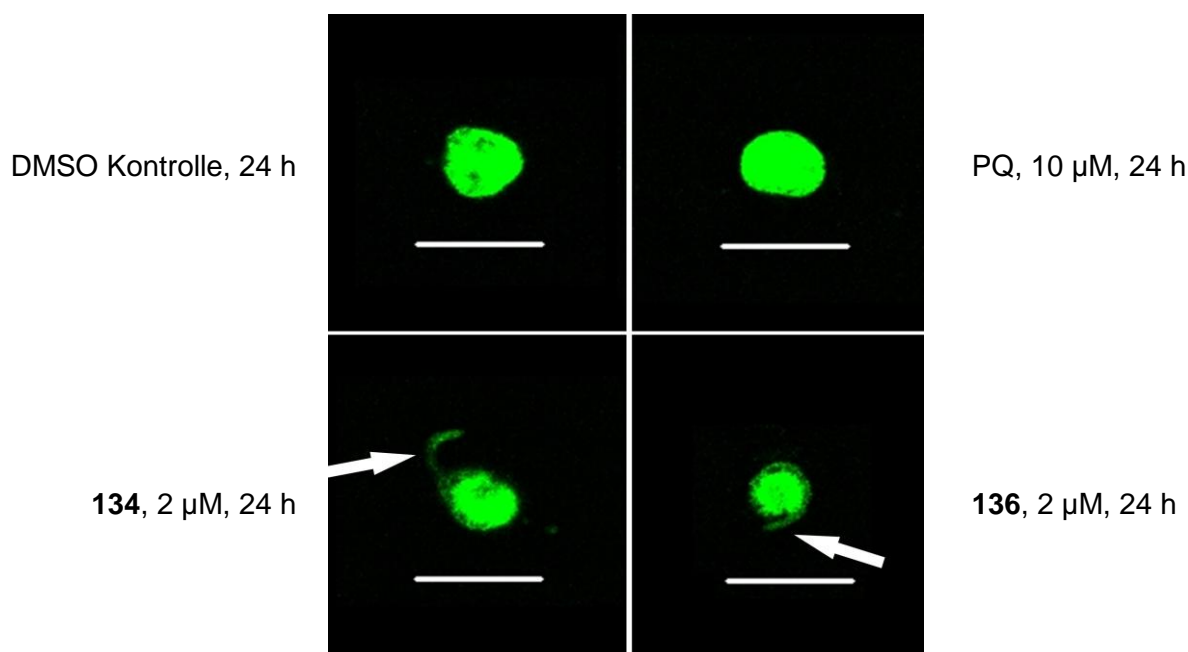


Abbildung 70: Durch **134** und **136** induzierte morphologische Defekte von frühen Leberstadien. Vergrößerte Ausschnitte aus Abb. 69. PQ: Primaquin (**11**). Maßstabsbalken: 10 µm. Alle Experimente und Bilder: J. SATTLER.

Nach diesen Ergebnissen sind die Naphthoxyethylbenzamidderivate **134** und **136** in ihrer Wirksamkeit *in vitro* dem in der Therapie gebräuchlichen Primaquin (**11**) deutlich überlegen. **134** und **136** sind sowohl gegen die Leberstadien von *P. berghei* als auch gegen intraerythrozytäre *P. falciparum*ⁿ um mindestens den Faktor fünf wirksamer.^[288]

ⁿ Primaquin zeigt gegen erythrozytäre *P. falciparum*, je nach Stamm, eine IC₅₀ von 10-20 µM.^[288]

A.7.2. Synthese und biologische Evaluierung von *N*-Phenyl-5-benzylidensubstituierten Thiazolidin-2,4-dionderivaten und Analoga

Verbindungen mit Rhodanin- und Thiazolidin-2,4-dionpartialstruktur werden vereinzelt als unselektive Liganden beschrieben.^[289] Ein Grund hierfür könnte die exozyklische Doppelbindung 5-alkylidensubstituierter Verbindungen sein: Diese ist mit einer Carbonylfunktion konjugiert und könnte in einer Michael-Addition mit biologischen Nukleophilen reagieren.^[290] Tatsächlich existiert eine gelöste Kristallstruktur (PDB 2AWZ^[291]), in der ein Cysteinrest kovalent an ein 5-arylalkylidensubstituiertes Rhodaninderivat kovalent an einen Cysteinrest bindet (Abb. 72). Andere gelöste Kristallstrukturen wie etwa die des PPAR γ -Rezeptor kokristallisiert mit Rosiglitazon (PDB 3DZY^[292]) zeigen eine spezifische Interaktion der Heterozyklen mit biologischen Zielstrukturen über komplexe Wasserstoffbrückennetzwerke (Abb. 72). NOTTBOHM et al.^[293] sowie andere^[294,295] beschreiben, dass sowohl Rhodanin- als auch Thiazolidin-2,4-dionderivate als „Phosphat-Mimetika“ verschiedene natürliche Substrate mit organisch gebundener Phosphat- und Phosphorsäureanhydridpartialstrukturen ersetzen können. Beide Heterozyklen können sowohl die Ladungen als auch die Geometrie des Phosphats durch ihre Bindungseigenschaften imitieren.

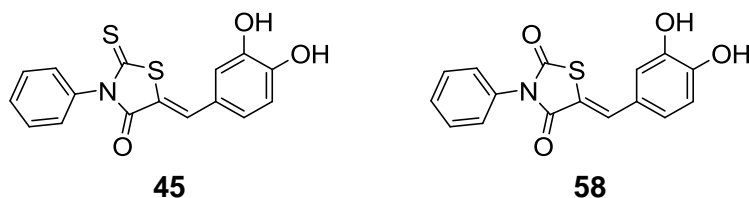


Abbildung 71: Chemische Struktur des 3,5-disubstituierten Rhodanin- (45) und Thiazolidin-2,4-dionderivats 58.

Neben der im vorangegangenen Abschnitt beschriebenen Entwicklung strukturell neuartiger FAS II-Inhibitoren lag ein weiterer Schwerpunkt dieser Arbeit in der Optimierung einer bestehenden Leitstruktur. Das Thiazolidin-2,4-dionderivat **58** wurde im Arbeitskreis um Prof. Dr. SCHLITZER als potenzieller *Pf*ENR-Inhibitor entwickelt. Diese Verbindung stellt das 2-Oxoderivat der Rhodaninverbindung **45** dar, für die KUMAR et al.^[255] eine Wirkung gegen *P. falciparum* und gegen das *Pf*ENR-Enzym zeigen konnten (Abb. 71).

Durch formale Substitution des 2-Thioxo-Substituenten am Rhodaniningerüst konnte die Zytotoxizität der Verbindung reduziert werden. Die Wirkung gegen *P. falciparum* blieb dabei unverändert.^[271] In einem Versuch, die Wirksamkeit der Verbindung zu erhöhen, wurde die

Katecholpartialstruktur bereits strukturell variiert. Hierbei zeigte sich das 3,4-Dihydroxy-Substitutionsmuster als ideal für die Wirkung gegen intraerythrozytäre Malaria-Parasiten.^[296]

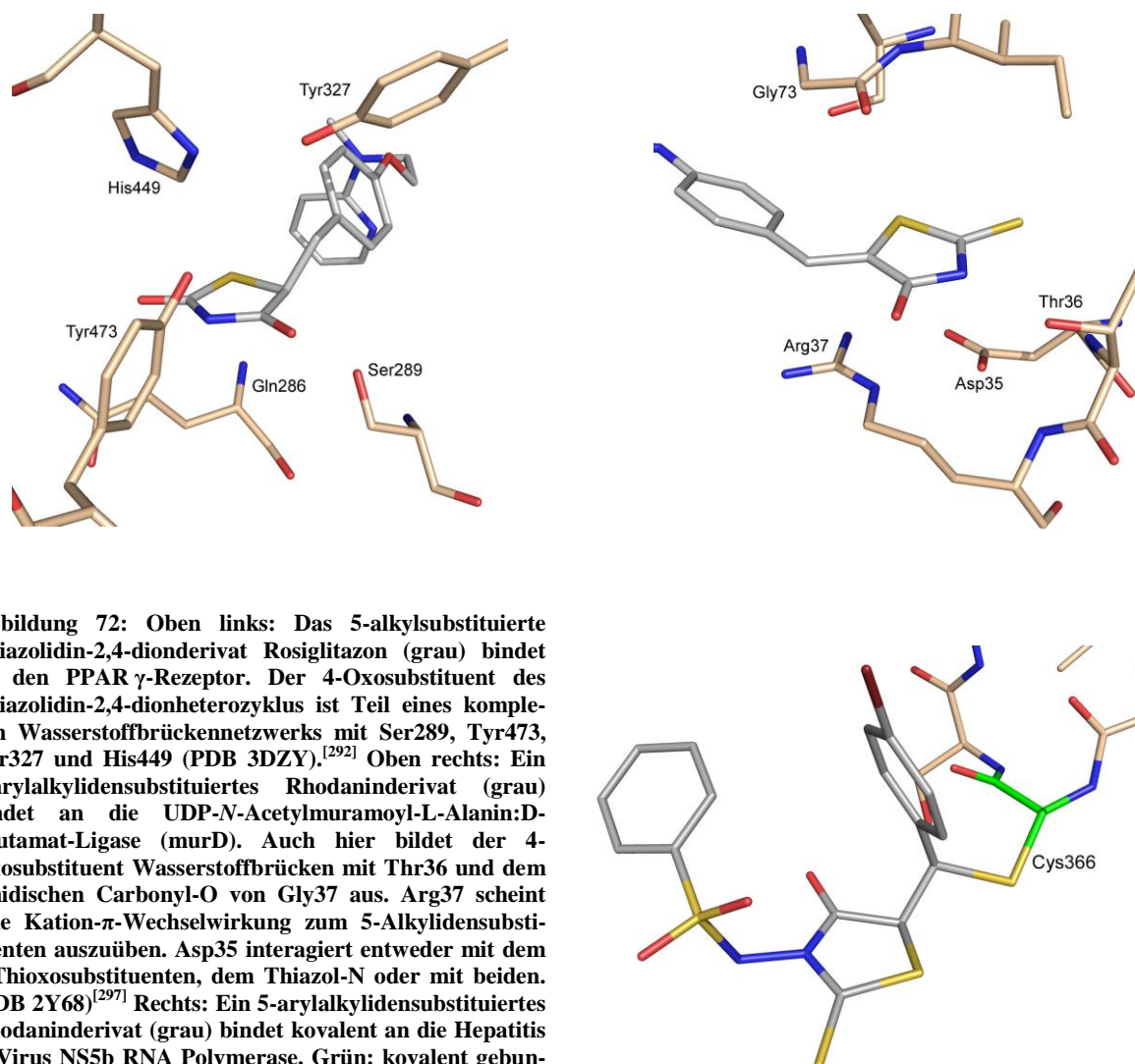


Abbildung 72: Oben links: Das 5-alkylsubstituierte Thiazolidin-2,4-dionderivat Rosiglitazon (grau) bindet an den PPAR γ -Rezeptor. Der 4-Oxosubstituent des Thiazolidin-2,4-dionheterozyklus ist Teil eines komplexen Wasserstoffbrückennetzwerks mit Ser289, Tyr473, Tyr327 und His449 (PDB 3DZY).^[292] Oben rechts: Ein 5-arylalkylidensubstituiertes Rhodaninderivat (grau) bindet an die UDP-*N*-Acetylmuramoyl-L-Alanin:D-Glutamat-Ligase (murD). Auch hier bildet der 4-Oxosubstituent Wasserstoffbrücken mit Thr36 und dem amidischen Carbonyl-O von Gly37 aus. Arg37 scheint eine Kation- π -Wechselwirkung zum 5-Alkylidensubstituenten auszuüben. Asp35 interagiert entweder mit dem 2-Thioxosubstituenten, dem Thiazol-N oder mit beiden. (PDB 2Y68)^[297] Rechts: Ein 5-arylalkylidensubstituiertes Rhodaninderivat (grau) bindet kovalent an die Hepatitis C Virus NS5b RNA Polymerase. Grün: kovalent gebundenes Cystein (PDB 2AWZ).^[291] Visualisiert mit PyMOL.^[166]

A.7.2.1. Variation der *N*-Phenyl- und der Katecholpartialstruktur

In vorangegangene *docking*-Studien von HILLEBRECHT wurde berechnet, dass Hydroxygruppen am *N*-Phenylsubstituenten der Leitstruktur **58** Wasserstoffbrücken zu AS-Resten der Bindetasche und zum Kofaktor ausüben können. Diese Wechselwirkungen können von 2-OH- und 4-OH-Substituenten des *N*-Phenylrestes mit berechneten polaren *hotspots* der Bindetasche ausgebildet werden. Abbildung 73 zeigt die Verbindungen, die demnach zunächst synthetisiert wurden.

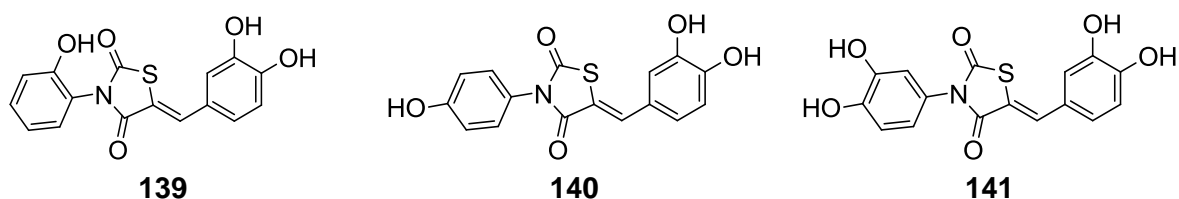
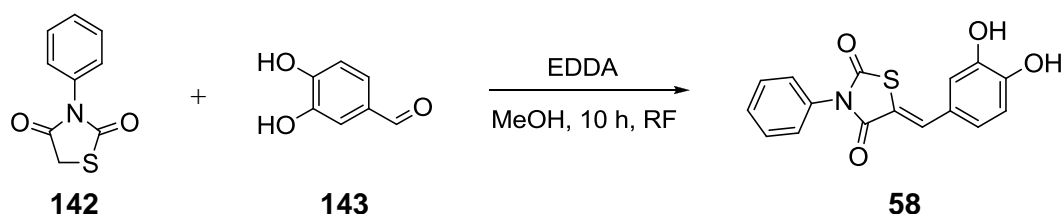


Abbildung 73: Ausgewählte *N*-hydroxyphenyl-5-arylalkylidensubstituierte Thiazolidin-2,4-dionderivate.

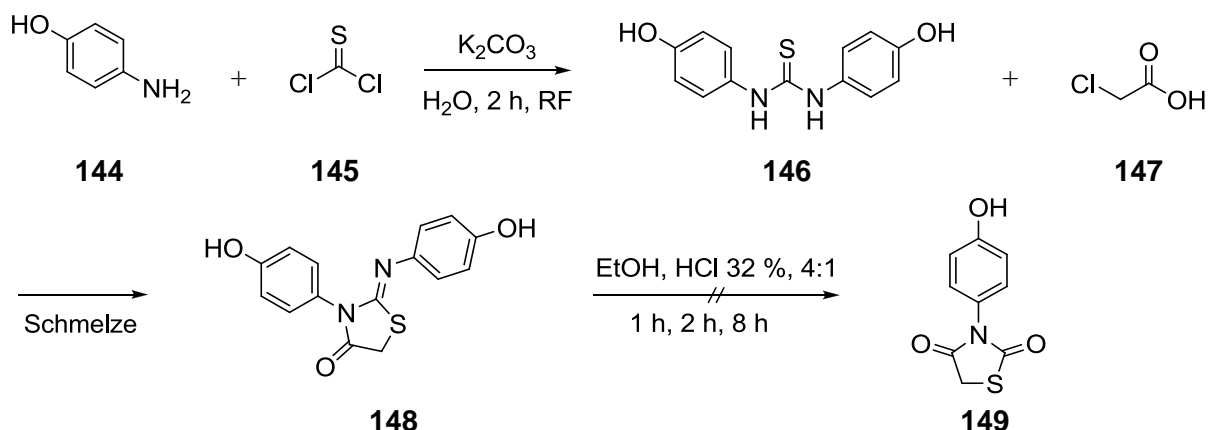
Wie in Schema 13 gezeigt, lassen sich derartige Verbindungen durch Kondensation eines *N*-arylsubstituierten Thiazolidin-2,4-dionderivats mit einem aromatischen Aldehyd darstellen. Die Leitstruktur **58** lässt sich folglich aus 3-Phenylthiazolidin-2,4-dion (**142**) und 3,4-Dihydroxybenzaldehyd (**143**) darstellen. Da beide Edukte kommerziell erhältlich sind, gelingt die Synthese nach dem allgemeinen Syntheschema 13 in einem Schritt:



Schema 13: Syntheschema zur Kondensation von *N*-phenylsubstituierten Thiazolidin-2,4-dionderivaten mit aromatischen Aldehydderivaten.

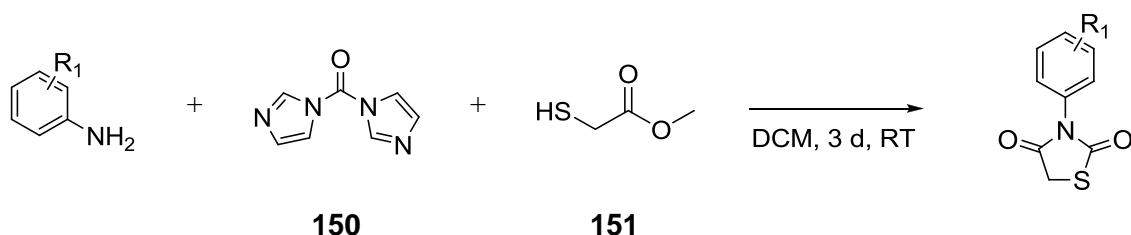
Um zu 5-arylalkylidensubstituierten Thiazolidin-2,4-dionderivaten zu gelangen, wurde das Thiazolidinderivat durch eine Knoevenagel-ähnliche Reaktion mit aromatischen Aldehydderivaten kondensiert. Nach einer von SCHLITZER^[298] beschriebenen Methode wurde zur Deprotonierung der aciden Methyleneneinheit des Thiazolidin-2,4-dion-Rings Ethylendiammoniumdiacetat (EDDA) als milde katalytische Base verwendet. Hierbei wird ausschließlich das (*Z*)-Isomer gebildet.^[299]

Zur Synthese der *N*-hydroxyphenyl-5-arylalkylidensubstituierten Thiazolidin-2,4-dionderivate sollten zunächst die entsprechenden *N*-hydroxyphenylsubstituierten Thiazolidin-2,4-dionderivate synthetisiert werden. Derartige Verbindungen sind auf unterschiedlichen Synthesewegen, ausgehend von den entsprechenden Aminoderivaten zugänglich.^[298,300] RAO und SINGH^[301] beschreiben die Synthese ausgehend von einem Anilinderivat, das im Folgenden mit Thiophosgen (**145**) zum symmetrischen Thioharnstoffderivat umgesetzt wird. Diese Verbindung wird mit Chloressigsäure (**147**) zu einem *N,N'*-disubstituierten 2-Iminothiazolidin-4-onderivat zyklisiert. Die Iminofunktion wird anschließend unter sauren Reaktionsbedingungen zu einer Carbonylfunktion hydrolysiert, um auf diese Weise das gewünschte Produkt zu erhalten.



Schema 14: Syntheschema zur geplanten Darstellung von 3-(4-Hydroxyphenyl)thiazolidin-2,4-dion (149) nach RAO und SINGH.^[301]

Schema 14 zeigt die geplante Synthese von **149** modifiziert nach RAO und SINGH.^[301] *N,N'*-Bis(4-hydroxyphenyl)thioharnstoff (**146**) wurde zunächst nach DYSON^[302] aus zwei äquivalenten 4-Aminophenol (**144**) und Thiophosgen (**145**) erhalten. Die Zyklisierung zum zyklischen Isothioharnstoffderivat **148** erfolgte durch Schmelze mit Chloressigsäure (**147**). Die folgende Hydrolyse zu 3-(4-Hydroxyphenyl)thiazolidin-2,4-dion (**149**) mit HCl konz. in Ethanol gelang jedoch weder bei 1, 2 noch 8 h Reaktionszeit. In allen Fällen konnte nur das Edukt isoliert werden. Wurde **148** in konz. HCl für 1 h zum Sieden erhitzt, konnten mehrere Produkte durch Dünnschichtchromatographie (DC) detektiert werden. Von diesen konnte jedoch keines durch Säulenchromatographie (SC) isoliert werden.

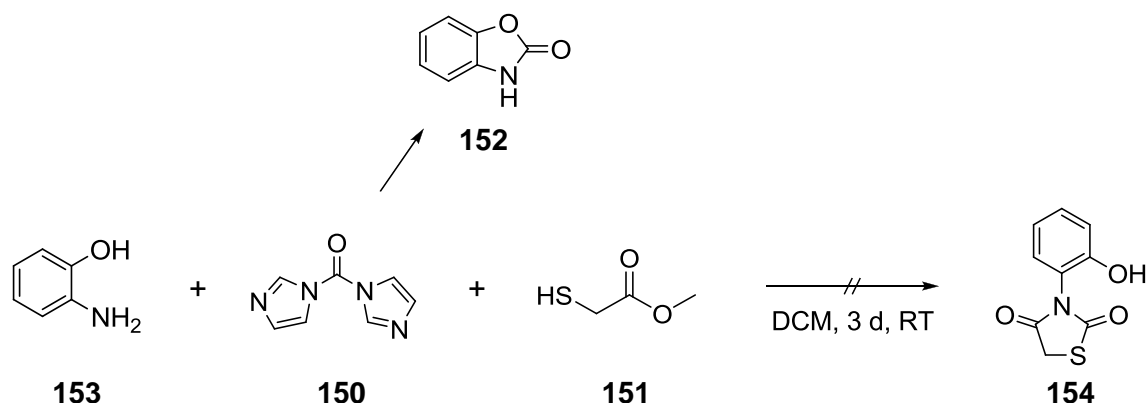


Schema 15: Synthese von *N*-phenylsubstituierten Thiazolidin-2,4-dionderivaten nach GEFFKEN.^[303]

GEFFKEN^[303] beschreibt einen alternativen Syntheseweg zur Darstellung *N*-substituierter Thiazolidin-2,4-dionderivate in einem Syntheseschritt unter vergleichsweise milden Bedingungen: Hierbei wird ein Aminoderivat mit Carbonyldiimidazol (**150**) und Thioglykolsäuremethylester (**151**) zyklisiert, ohne die dabei entstehenden Zwischenstufen zu isolieren (Schema 15). Auf diese Weise konnten die im Folgenden beschriebenen 3-substituierten Thiazolidin-2,4-dionderivate aus den entsprechenden Anilinderivaten dargestellt werden.

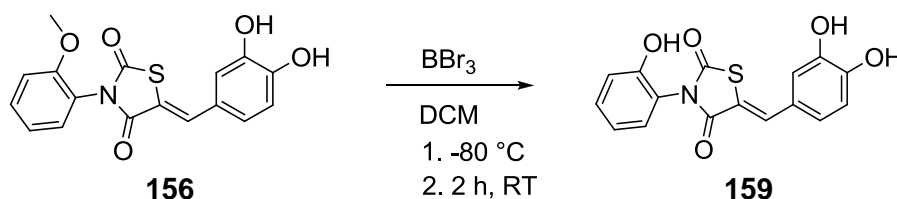
Es gelang jedoch nicht, 3-(2-Hydroxyphenyl)thiazolidin-2,4-dion (**154**) über diesen Syntheseweg darzustellen. 2-Aminophenol (**153**) reagierte mit CDI (**150**) ausschließlich unter Bil-

dung des zyklischen Carbamidsäurederivats Benzo[*d*]oxazol-2(3*H*)-on (**152**), das als einziges Produkt isoliert werden konnte. Da **154** zur Darstellung des entsprechenden 5-(3,4-Dihydroxybenzyliden)-Derivats **159** unerlässlich ist, wurde ein anderer Syntheseweg für **154** entwickelt.



Schema 16: Versuch der Synthese von 3-(2-Hydroxyphenyl)thiazolidin-2,4-dion (**154**).

Die Darstellung von **159** gelang aus dem zunächst nach Schema 13 und 15 hergestellten 5-substituierten 3-(2-Methoxyphenyl)thiazolidin-2,4-dionderivat **155** (Schema 17). Im Folgenden gelang es, die Methoxygruppe von **156** durch die Lewis-Säure Bortribromid (BBr_3) zur phenolischen OH-Gruppe von **159** spalten. Hierbei zeigte sich eine ausgeprägte Stabilität der Verbindungsklasse der 3,5-disubstituierten Thiazolidin-2,4-dionderivate gegenüber der Lewis-Säure. Bei der Reaktion konnten durch Dünnschichtchromatographie (DC) keine Nebenprodukte detektiert werden.



Schema 17: Syntheschema zur Darstellung von (Z)-5-(3,4-Dihydroxybenzyliden)-3-(2-hydroxyphenyl)thiazolidin-2,4-dion (**159**) durch Etherspaltung mit BBr_3 .

N-phenylsubstituierte Thiazolidin-2,4-dionderivate wie 3-*o*-Tolylthiazolidin-2,4-dion (**158**), die am *N*-Phenylring einen *o*-Substituenten von der Größe einer Methylgruppe aufweisen, zeigen eine in Wirkstoffen unerwünschte Chiralität. Ein 2-unsubstituierter *N*-Phenylsubstituent ist frei um seine Bindungsachse drehbar und kann hierbei alle theoretischen Positionen einnehmen. Die C-5 Protonen des Thiazolrings (blau in Abb. 74) haben dadurch die gleiche chemische Umgebung und man misst für sie im ^1H -NMR-Experiment nur ein Signal. Ein *o*-substituierter *N*-Phenylsubstituent, wie in **158**, wird jedoch sterisch in seiner Drehung gehindert. Es entstehen zwei Atropisomere (von griech. *tropos*: Drehung), in denen jeweils der

N-Phenylsubstituent bei RT manche Positionen nicht einnehmen kann. Es liegen also zwei asymmetrische Atropisomere mit unterschiedlichen Eigenschaften vor. In jeder dieser beiden Verbindungen haben auch die beiden C-5-Protonen jeweils eine andere chemische Umgebung und man misst für sie das Signal eines Zweispin-Systems vom AB-Typ.^[304]

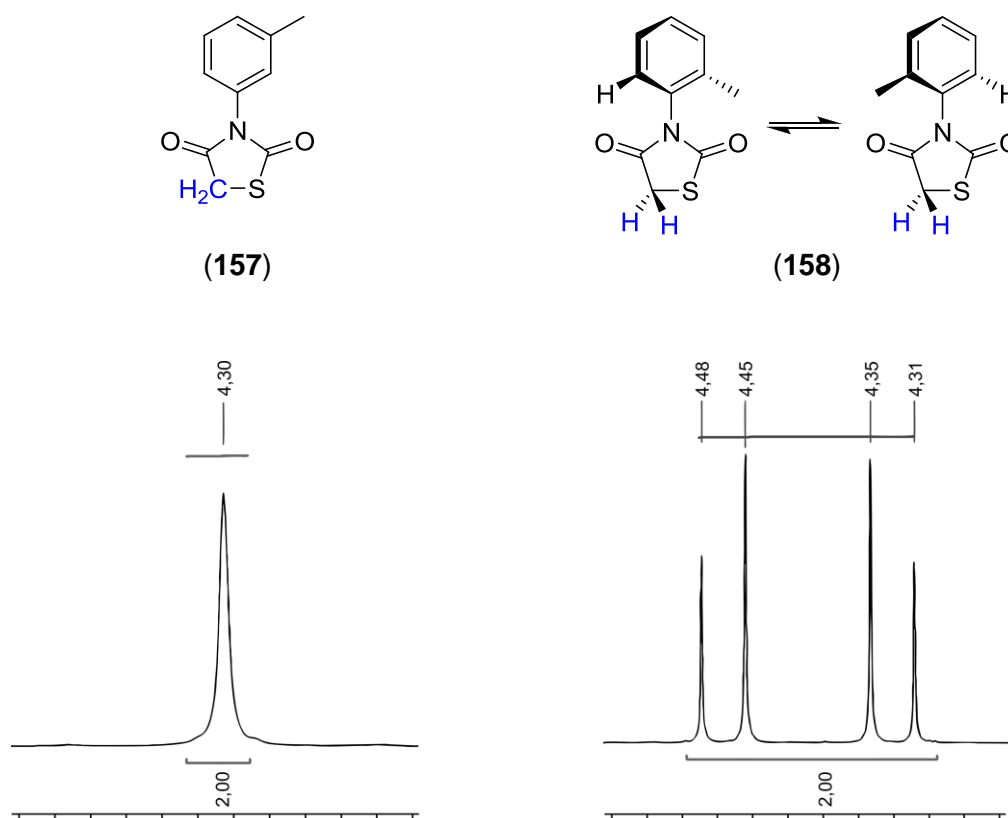
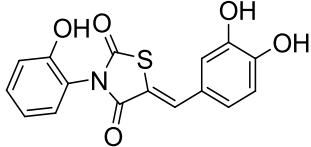
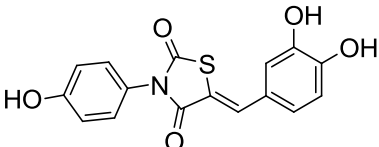
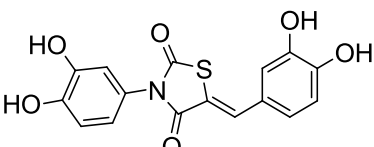
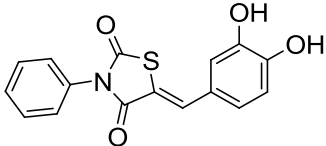


Abbildung 74. Ausschnitte der gemessenen ¹H-NMR Spektren von 3-*m*-Tolylthiazolidin-2,4-dion (157) und 3-*o*-Tolylthiazolidin-2,4-dion (158). Gezeigt sind die Signale für die C-5 Protonen. Die Spektren wurden in DMSO-*d*₆ gemessen. Eine detaillierte Beschreibung von NMR-Experimenten findet sich in Abschnitt C.

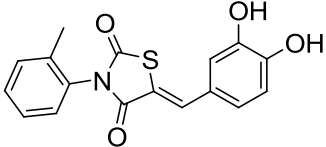
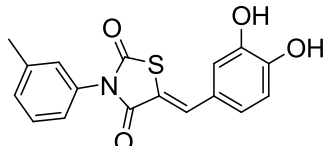
Demnach liegen auch für das synthetisierte *N*-(2-hydroxyphenyl)substituierte Thiazolidin-2,4-dionderivat **159** zwei Atropisomere vor, von denen jedoch möglicherweise nur eines die gewünschte pharmakologische Wirkung aufweist. In diesem Fall würde das Razemat im Assay eine geringere Wirkung zeigen, als es für das reine aktive Isomer (Eutomer) der Fall wäre.

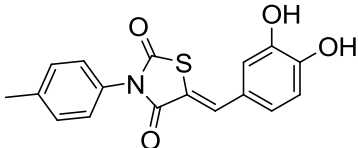
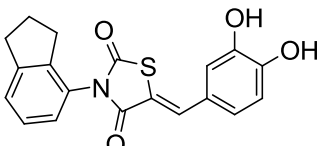
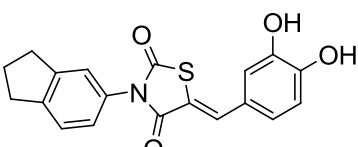
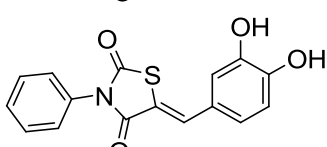
Tabelle 14: Messwerte für *N*-hydroxyphenylsubstituierte Thiazolidin-2,4-dionderivate. Zytotoxizitätsmessung: H.-M. DAHSE. *Pf*-Wirkstoff-Proliferations-Assay: S. BAUMEISTER, falls nicht anders gekennzeichnet. ¹Die Messung erfolgte eigenständig am Universitätsklinikum Heidelberg, Dept. für Infektiologie, Parasitologie

		IC ₅₀ (<i>P. falciparum</i>) [μM]	CC ₅₀ (HeLa) [μM]	SI
159		>10 μM ¹	14,9	-
159		>10 μM ¹	14,0	-
160		>10μM ¹	14,2	-
58		2,0	107,6	53,8

Im zellbasierten Assay zeigen alle synthetisierten und getesteten 3-(hydroxyphenyl)-substituierten Thiazolidin-2,4-dionderivate eine IC₅₀ von >10 μM und sind damit weniger aktiv als die Ausgangsverbindung **58** (IC₅₀ = 2,0 μM). Mit ihr verglichen weisen die OH-substituierten Derivate außerdem eine deutlich höhere Zytotoxizität auf (Tab. 14). Auf Grund dieser Messergebnisse wurde von der weiteren Entwicklung 3-(hydroxyphenyl)-substituierter Thiazolidin-2,4-dionderivate abgesehen.

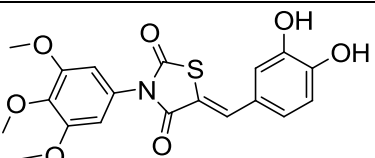
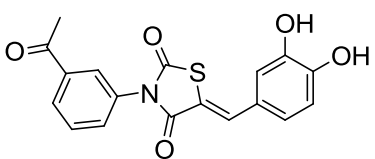
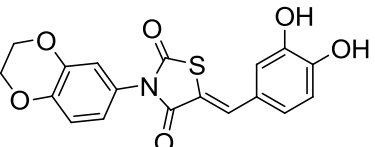
Tabelle 15: Testwerte der synthetisierten alkylsubstituierten *N*-Phenylthiazolidin-2,4-dionderivate. Zytotoxizitätsmessung: H.-M. DAHSE. *Pf*-Wirkstoff-Proliferations-Assay: S. BAUMEISTER. NV: Kein Messwert verfügbar.

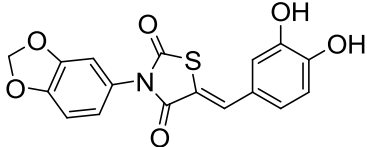
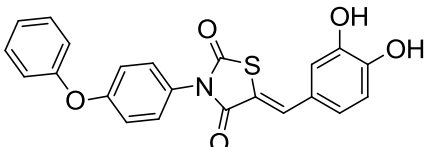
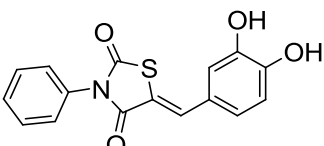
		IC ₅₀ (<i>P. falciparum</i>) [μM]	CC ₅₀ (HeLa) [μM]	SI
161		2,2	NV	-
162		1,6	NV	-

		IC ₅₀ (<i>P. falciparum</i>) [μM]	CC ₅₀ (HeLa) [μM]	SI
163		1,6	90,4	55,5
164		68,9	NV	-
165		8,3	29,2	3,5
58		2,0	107,6	53,8

Um den Einfluss unpolarer Gruppen am *N*-Phenylsubstituenten der Ausgangsverbindung **58** auf die Wirksamkeit und Zytotoxizität zu messen, wurden die alkylsubstituierten Derivate **161-165** synthetisiert und biologisch getestet (Tab. 15). *N*-tolylsubstituierte Derivate **161-163** zeigen im zellbasierten Assay gegen *P. falciparum* eine Wirksamkeit ähnlich der Ausgangsverbindung **58**. Das 3-(Indan-5-yl)-substituierte Thiazolidin-2,4-dionderivat **165** (IC₅₀ = 8,3 μM) ist hier wirksamer als das entsprechende 3-(Indan-4-yl)-substituierte Derivat **164** (IC₅₀ = 68,9 μM).

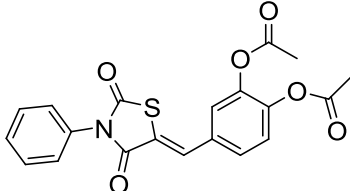
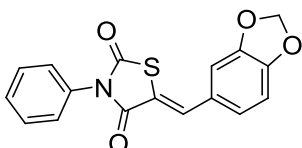
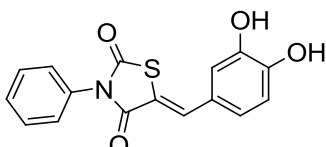
Tabelle 16: Testwerte der substituierten *N*-Phenylthiazolidin-2,4-dionderivate. Zytotoxizitätsmessung: H.-M. DAHSE. *Pf*-Wirkstoff-Proliferations-Assay: S. BAUMEISTER. NV: Kein Messwert verfügbar.

		IC ₅₀ (<i>P. falciparum</i>) [μM]	CC ₅₀ (HeLa) [μM]	SI
166		34,9	NV	-
167		32,7	NV	-
168		2,2	NV	-

		IC ₅₀ (<i>P. falciparum</i>) [μM]	CC ₅₀ (HeLa) [μM]	SI
169		1,8	>139,9	77,7
170		27,3	NV	-
58		2,0	107,6	53,8

Unpolare Substituenten werden offensichtlich am *N*-Phenylrest ohne Wirkungsverlust toleriert. Methoxy- und strukturell verwandte Substituenten können als Wasserstoffbrückenakzeptoren wirken und gleichzeitig hydrophobe Wechselwirkungen ausüben. Im Folgenden wurde daher das 3,4,5-dimethoxy- (**166**), das 3-acetylsubstituierte (**167**) Derivat sowie das *N*-benzodioxin- (**168**), *N*-benzodioxol- (**169**) und *N*-(4-Phenoxyphenyl)substituierte (**170**) Derivat der Ausgangsverbindung **58** synthetisiert und getestet (Tab. 16). Nur das *N*-benzodioxin- (**168** IC₅₀ = 2,2 μM) und das *N*-benzodioxolsubstituierte (**169**, IC₅₀ = 1,8 μM) Derivat zeigen keinen Aktivitätsverlust. Gleichzeitig weist dieses Derivat eine verringerte Zytotoxizität auf (CC₅₀ >139,9; SI = 77,7).

Tabelle 17: Testwerte der synthetisierten substituierten *N*-Phenylthiazolidin-2,4-dionderivate. *Pf*-Wirkstoff-Proliferations-Assay: S. BAUMEISTER.

		IC ₅₀ (<i>P. falciparum</i>) [μM]
171		1,5
172		28,3
58		2,0

Da keine Variation der *N*-Phenylpartialstruktur zu wirksameren Derivaten führte, wurde nun die Katecholstruktur des 5-Benzylidensubstituenten formal substituiert. Durch Erhöhung der Lipophilie der Ausgangsverbindung **58** sollte die Membranpermeabilität und damit die Wirksamkeit im zellbasierten Assay verbessert werden. Hierfür wurden das Diesterderivat **171** und das Methylacetalderivat **172** als potenzielle *prodrugs* synthetisiert und getestet. **171** ist im zellbasierten Assay in einer ähnlichen IC₅₀ wirksam wie die Ausgangsverbindung **58**. Dagegen kann die Methylacetalstruktur von **172** offenbar nicht effektiv enzymatisch zum Katecholderivat **58** umgesetzt werden, da diese Verbindung hier eine deutlich geringere Wirksamkeit aufweist (Tab. 17).

Insgesamt zeigt kein Derivat der Ausgangsverbindung **58** eine deutlich verbesserte Aktivität gegen *P. falciparum*. Um die Thiazolidin-2,4-dionpartialstruktur bioisoster zu substituieren, wurden im Folgenden offenkettige Derivate der zyklischen Ausgangsverbindung synthetisiert.

A.7.2.2. *Synthese und Evaluierung von Amidderivaten der Kaffeesäure*

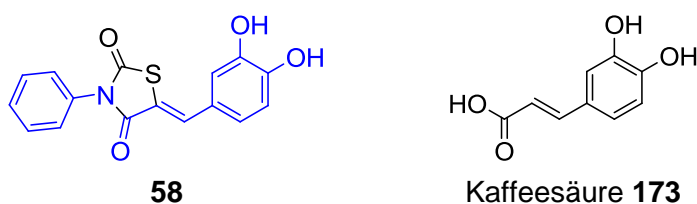
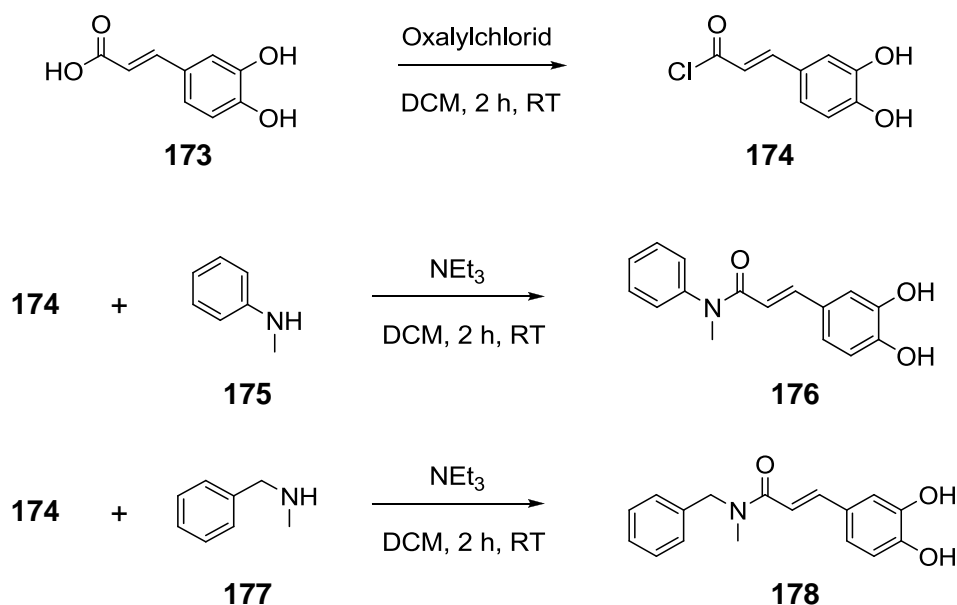


Abbildung 75: Kaffeesäureamide sind ein formales Strukturelement (blau) 5-(3,4-Dihydroxybenzyliden)-substituierter Thiazolidin-2,4-dionderivate.

Die Ausgangsverbindung **58** enthält formal das chemische Strukturelement eines Amidderivats der 3-(3,4-Dihydroxyphenyl)acrylsäure (Kaffesäure, **173**, Abb. 75). Kaffeesäure (**173**) findet man in allen Pflanzen. Dort hat der Naturstoff u. a. eine wichtige Funktion beim Aufbau der Zellwand. Ester- und Amidderivate der Kaffesäure (**173**) weisen unterschiedliche pharmakologische Wirkung auf. Z. B. wurden eine Hemmung der Leukotrienbiosynthese^[305] sowie eine antioxidative,^[306,307,308] antiproliferative,^[309,310] antivirale^[311,312] und antibakterielle Wirkung^[313] gezeigt. Um den inhibitorischen Effekt entsprechender Derivate auf das Wachstum von *P. falciparum* zu evaluieren, wurden das *N*-Methyl-*N*-phenyl- (**176**) und *N*-Methyl-*N*-benzylcarbonsäureamidderivat **178** synthetisiert (Schema 18).



Schema 18: Synthese von Amidderivaten **176** und **178** der Kaffeesäure.

Die Wirkung der Kaffeesäurederivate **176** und **178** gegen *P. falciparum* sowie deren zytotoxische Wirkung gegen HeLa-Zellen wurde in einem zellbasierten Wirkstoff-Proliferations-Assay bestimmt. Zusätzlich wurde von G. AFANADOR^o die inhibitorische Wirkung dieser Derivate auf die TgENR im Vergleich zur Ausgangsverbindung **58** und Triclosan (**29**) bestimmt.

Tabelle 18: Testwerte der synthetisierten Kaffeesäureamide im Vergleich zur Leitstruktur **58**. Zytotoxizitätsmessung: H.-M. DAHSE. Pf-Wirkstoff-Proliferations-Assay: S. BAUMEISTER.

		IC ₅₀ (<i>P. falciparum</i>) [μM]	CC ₅₀ (HeLa) [μM]	SI
176		25,9	128,5	5,0
178		10,5	109,1	10,4
58		2,0	107,6	53,8

Die Kaffeesäureamidderivate **176** (IC₅₀ = 24,9 μM) und **178** (IC₅₀ = 10,5 μM) inhibieren das Wachstum intraerythrozytärer *P. falciparum* *in vitro* in mikromolaren Konzentrationen. Das *N*-benzylsubstituierte Derivat **178** zeigt hier eine etwa um den Faktor zwei höhere Wirkung

^o Arbeitsgruppe J.T. PRIGGE, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health.

als das entsprechende *N*-Phenylderivat. Verglichen mit der Ausgangssubstanz **58** ($IC_{50} = 2,0 \mu M$) sind **176** und **178** um den Faktor 13 und 5 weniger aktiv. In ihrer Zytotoxizität gegen HeLa Zellen entsprechen die drei getesteten Verbindungen einander (Tab.18).

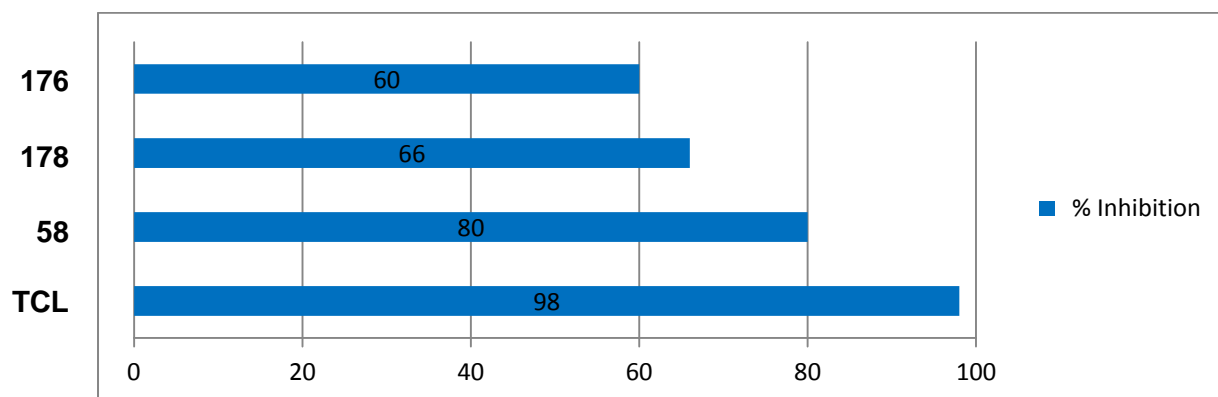


Abbildung 76: Inhibition der *TgENR* durch Amidderivate der Kaffeesäure in %. Die Konzentration der Verbindungen im Assay war $1 \mu M$. TCL: Triclosan, 98 %. *TgENR*-Assay: G. AFANADOR

Abbildung 76 zeigt die prozentuale Inhibition der *TgENR* durch die Kaffeesäureamidderivate **176** (60%) und **178** (66%) sowie durch die Ausgangsverbindung **58** (80%) und Triclosan (**29**, 98%). Alle drei getesteten Verbindungen inhibieren das Enzym in einer Konzentration von $1 \mu M$ mehr als halbmaximal. Von den Verbindungen, die außerdem einen Effekt auf *P. falciparum* im zellbasierten Assay zeigen, stellt **58** den aktivsten *TgENR*-Inhibitor dieser Arbeit dar.

**B. Entwicklung potenzieller Bid-Inhibitoren als
Wirkstoffe gegen neuronalen Zelltod**

B.1. Einleitung

Durch verbesserte Lebensbedingungen und Gesundheitsversorgung erhöht sich die Lebenserwartung und gleichzeitig der Anteil älterer Menschen in Deutschland sowie in anderen Industriestaaten.^[314] Konstant damit steigt auch die Inzidenz von Erkrankungen, die mit neurodegenerativen Prozessen einhergehen. Trotz des steigenden Bedarfs an wirkungsvoller, kausaler Therapie ist bei Hirninfarkt, Parkinson-Krankheit, Alzheimer-Krankheit und weiteren alters-typischen-Krankheiten ausschließlich eine symptomatische Behandlung möglich. Eine rege Forschung an den pathologischen Mechanismen offenbart äußerst komplexe und teils offenbar redundante Signalwege, deren Endpunkt aber bei jeder Erkrankung der neuronale Zelltod ist. Bis zum heutigen Zeitpunkt gibt es keinen Wirkstoff, der am Patienten die Degeneration von Neuronen dauerhaft aufhalten oder umkehren kann.

Dabei liegt dies nicht an mangelnder Bereitschaft der Pharmaindustrie zur Wirkstoffentwicklung. Es besteht auch ein großes kommerzielles Interesse, da der Bedarf an neuen Wirkstoffen absehbar steigen wird, und hauptsächlich Patienten in relativ vermögenden Staaten betroffen sind. So befanden sich im Oktober 2011 über 1.000 Wirkstoffe zur Therapie neurodegenerativer Erkrankungen in der Entwicklung oder in klinischen Studien der Privatwirtschaft.^[315]

Bei der Entwicklung und zwingend notwendigen Testung von kleinen Molekülen als potenzielle Wirkstoffe gegen neurodegenerative Erkrankungen ist bereits eine Evaluierung auf molekularer Ebene problematisch: Anders als bei Stoffwechselvorgängen wirken viele an Signalkaskaden beteiligte Proteine nicht als Enzyme. Sie setzen keine niedrigmolekularen Substrate um, sondern wirken durch Protein-Protein-Interaktion, ohne ihre Liganden dauerhaft zu modifizieren. Da in solchen Fällen also keine detektierbaren Metabolite entstehen, ist es vergleichsweise aufwendig, die Wirkung eines potenziellen Inhibitors dieser Interaktion zu quantifizieren. Hierfür sind selten Assays etabliert. Davon abgesehen, haben entsprechende Proteine zum einen selten ausschließlich eine einzelne Funktion, zum anderen existieren möglicherweise weitere, bisher unbekannte Proteine als potenzielle Interaktionspartner. In einem zellfreien Protein-Protein-Interaktions-Assay mit rekombinanten Proteinen lassen sich daher physiologische Effekte möglicherweise nicht ausreichend simulieren.

Dies führt zu einem weiteren großen Problem der Wirkstoffentwicklung auf diesem Gebiet. Ergebnisse aus einem Testsystem sind nur selten auf ein weiteres übertragbar. So zeigen viele Inhibitoren aus *in vitro* Testsystemen keinen Effekt im Tiermodell. Gleichzeitig gelingt es nur in den seltensten Fällen, die in Tieren erreichten positiven Ergebnisse im Menschen zu reproduzieren.^[316,317,318,319,320,321,322] Es ist daher sinnvoll, Inhibitoren des neuronalen Zelltods zu

einem frühen Zeitpunkt der Entwicklung im zellbasierten Assay sowie *in vivo* zu testen, um Zell- und ZNS-Gängigkeit der Substanzen zu evaluieren.

B.2. Neuronaler Zelltod

Proliferation und Zelltod im Gewebe von Säugetieren sind gewöhnlich im Gleichgewicht. Entgegen anderer Zellen im Körper von Säugetieren sterben Neurone jedoch nicht regelmäßig, um dann durch neue Zellen ersetzt zu werden. Auch nach Verletzungen und Gewebsverlust proliferieren sie nicht, um etwa zerstörtes bzw. fehlendes Gewebe zu ersetzen. Der Zelltod von Neuronen tritt ausschließlich im Rahmen der pränatalen physiologischen Entwicklung oder als pathologischer Prozess auf Grund von Krankheit auf.^[323]

Der Verlust von Neuronen nach akutem Hirntrauma oder bei neurodegenerativen Erkrankungen erfolgt progredient nach zwei grundsätzlich verschiedenen Mechanismen: Apoptose ist ein gerichteter, unter normalen Umständen physiologischer Prozess und tritt z. B. während der Entwicklung des Gehirns oder in virusinfizierten Zellen auf. Gleichzeitig wird dieser Vorgang mit dem pathologischen Verlust von Neuronen bei der Alzheimer-Krankheit, Parkinson und auch mit ischämischem oder traumatischem Insult in Verbindung gebracht.^[324] Nekrose ist ein ungerichteter Prozess, und wird u. a. ebenfalls durch Trauma oder Infektion ausgelöst. Diese zwei Mechanismen unterscheiden sich in ihrer Zellmorphologie, führen jedoch beide bei neurodegenerativen Erkrankungen zum Untergang von Neuronen.

B.2.1. Definition und Prävalenz neurodegenerativer Erkrankungen

Die Einteilung neurodegenerativer Erkrankungen erfolgt üblicherweise symptomorientiert oder nach der Lage der pathologischen Veränderung. Neuer ist der Versuch, eine Systematik in molekularen Mechanismen wie der pathologischen Akkumulation von bestimmten Proteinen oder DNS-Sequenzen zu erkennen.^[325,326] Unabhängig davon handelt es sich, vom ischämischen Insult und einer Intoxikation abgesehen, immer um progredient verlaufende, meist idiopathische Erkrankungen. Seltener findet man eine klare Kausalität wie eine erbliche Mutation. Eine Verschlechterung, insbesondere der kognitiven Symptome, scheint unaufhaltsam. Beispielsweise entwickeln 80 % aller Menschen, die mit einer „leichten kognitiven Schwäche“ auffallen oder bei denen zufällig eine solche diagnostiziert wird, eine Alzheimer Erkrankung.^[327] Eine Therapie erfolgt in den meisten Fällen symptomorientiert, da die Ursachen oft nicht bekannt sind, und keine kausal wirkenden Wirkstoffe verfügbar sind. Die eingesetzten Medikamente nehmen jedoch teilweise im Laufe der Behandlung in ihrer Wirksamkeit ab oder führen zu schweren Nebenwirkungen.^[328]

Neurodegenerative Erkrankungen stellen ein wachsendes Problem in vielen Industriestaaten dar. Die Einwohnerzahl Deutschlands wird bis 2030 voraussichtlich auf 77 Millionen sinken, im gleichen Zeitraum wird die Altersgruppe der 65-Jährigen und Älteren von 16,7 Millionen (2008) auf 22,3 Millionen ansteigen.^[314] Da die Prävalenz für neurodegenerative Erkrankungen jeder Art deutlich mit dem Lebensalter zunimmt,^[329,330] werden sich die Fallzahlen dieser Erkrankungen absehbar massiv erhöhen. Gleichzeitig wird der jetzt schon bestehende dringende Bedarf an neuen, wirksamen Therapieoptionen weiter wachsen.

Neurodegenerative Erkrankungen stellten bereits 2006 die Ursache für jeden zehnten aller weltweiten Todesfälle dar.^[331] Darüber hinaus ist die Lebensqualität betroffener Patienten häufig erheblich eingeschränkt.^[331,332] Besonders der mit vielen dieser Krankheiten einhergehende, progrediente Verlust kognitiver Fähigkeiten sowie Ataxie haben häufig einen deutlich negativen Einfluss auf die Gestaltung des Alltags, und wie dieser empfunden wird.^[333] Zusätzlich ist die soziale Integration fast immer deutlich verschlechtert und Patienten fühlen sich stigmatisiert.^[334] Betroffen ist aber auch das soziale Umfeld der Patienten: Familienangehörige, die sie betreuen, stehen häufig unter einer hohen physischen, psychosozialen und finanziellen Belastung.^[327]

B.2.2. Neurotransmitter

Ohne Frage ist das Gehirn mit 85 bis über 120 Milliarden^[335] geschätzten neuronalen Zellen das komplexeste menschliche Organ. Neurone (von griechisch *neûron*, „Nerv“) sind morphologische und funktionelle Einheiten des Nervensystems eines Organismus. Sie leiten Erregungen im peripheren NS und dienen im ZNS der Informationsverarbeitung und Speicherung. Neurotransmitter (NT) vermitteln die Erregungsübertragung an chemischen Synapsen, wobei Glutamat (Glu, **179**), das Anion der Glutaminsäure, der häufigste Transmitter an erregenden Synapsen des ZNS ist. Es dient insbesondere der Erregungsübertragung von aufsteigenden sensorischen Bahnen auf Neurone im gesamten Gehirn.

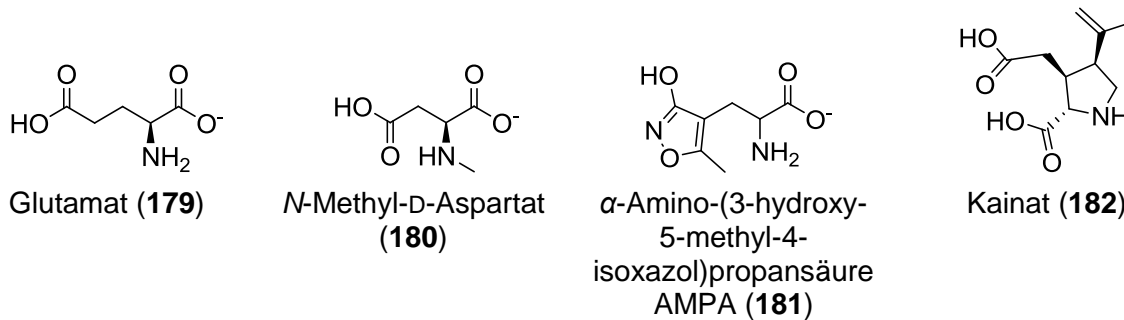


Abbildung 77: Chemische Struktur von Neurotransmittern glutamaterger Synapsen.

Glutamatrezeptoren lassen sich in Subtypen unterscheiden, die nach den an ihnen angreifenden Agonisten benannt werden: NMDA- (*N*-Methyl-*D*-Aspartat, **180**), AMPA- (engl.: *α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid*, **181**), Kainat- (**182**, das Anion der Kain-säure, Abb. 77) sowie mehrere metabotrope Rezeptoren. Der NMDA-Rezeptor ist ein ligan-den- und spannungsabhängiger, ionotroper Glutamatrezeptor und beinhaltet einen für Ca^{2+} -Ionen hochpermeablen, jedoch unselektiven Kationenkanal. Spannungsabhängig ist er wäh-rend des Ruhepotenzials durch Mg^{2+} blockiert, erst bei andauernder Depolarisation wird er aktiviert, was zu einem Ca^{2+} -Einstrom in die Zelle führt. NMDA (**180**) ist ein experimenteller Agonist ohne physiologische Bedeutung. Glutamat (**179**) ist ein physiologischer Ligand. Au-ßer seiner Funktion als NT ist Glutamat (**179**) unentbehrlich bei der Synaptogenese und bei Veränderungen der Synapse abhängig vom Grad der Nutzung („*synaptic plasticity*“). Beides ist zum Beispiel essenziell bei Lern- und Gedächtnisvorgängen. Übermäßige Aktivierung des NMDA-Rezeptors kann das Neuron schädigen (Exzitotoxizität), was eine Vielzahl neuro- und myelindegenerativer Erkrankungen bewirken kann.^[336]

B.2.3. Exzitotoxizität

Die physiologische extrazelluläre Konzentration von Glutamat wird je nach Messmethode mit 25 nM bis 30 μM beschrieben.^[337,338,339] An stimulierten Synapsen findet man Konzentratio-nen im niedrigen millimolaren Bereich und in synaptischen Vesikeln und Nervenenden bis zu 100 mM.^[336] Spezifische Transporter (EAAT; *excitatory amino acid transporter*) entfernen den NT schnell aus dem synaptischen Spalt und dem Extrazellulärraum, nicht nur mit dem Ziel der Wiederverwertung, sondern auch, um die Zelle zu schützen: Anomal hohe extrazel-luläre Glutamatkonzentrationen können sowohl *in vivo*^[340] als auch *in vitro*^[341] zum Abster-ben von Neuronen führen. Exzitotoxizität beschreibt die Wirkung unphysiologisch hoher Konzentrationen von Glutamat oder eines verwandten exzitatorischen NTs auf ein Neu-

ron.^[340] Neuropathologische Exzitotoxizität wird meist durch Glutamat-Rezeptoren vermittelt.^[336]

Im Tierversuch bewirken hohe, systemisch applizierte Dosen von Glutamat charakteristische pathologische Veränderungen: 30 Minuten nach der Injektion findet man im Elektronenmikroskop durch extrazelluläres Na^+ bedingtes Anschwellen der Nervenzellkörper und Dendriten. Folgend beobachtet man die verzögerte Degeneration von Zellorganellen und Kondensation des Chromatins, bedingt durch extrazelluläres Ca^{2+} und das Absterben der Neuronen. Diese Wirkung lässt sich *in vitro* an Zellkulturen und Gewebekulturen wie kultivierten Neuronen, Retinapräparation und Hirnschnittkulturen reproduzieren. Für den neuronalen Zelltod sind insbesondere NMDA-Rezeptoren verantwortlich.^[342] Das Anschwellen der Neuronen erfolgt innerhalb von Minuten und ist von der Anwesenheit extrazellulären Na^+ und Cl^- abhängig.^[343,344,345] Die zweite Reaktion, der verzögert zu beobachtende Zerfall des Neurons, tritt innerhalb der nächsten Stunden ein und ist von der Anwesenheit extrazellulären Ca^{2+} abhängig.^[341] Eine weitere Erhöhung der extrazellulären Ca^{2+} -Konzentration bei submaximal toxischer Glutamat-Stimulation steigert den neurodegenerativen Effekt.^[341,346] Jede der beiden Reaktionen für sich genommen kann das Neuron irreversibel schädigen, in den meisten kortikalen Neuronen dominiert jedoch die zweite, verzögerte Reaktion. Das gilt insbesondere für die Wirkung niedrigerer, exzitotoxischer Glutamatkonzentrationen.

Die im Experiment durch Glutamat an Neuronen induzierten Schäden ähneln stark dem pathophysiologischen Bild von Hirn und Rückenmarksverletzungen und werden entsprechend mit einer Vielzahl von weiteren neurodegenerativen Krankheitsbildern in Verbindung gebracht. Z. B. zeigen Patienten nach schwerer Verletzung durch Hirntrauma eine niedrige Überlebensrate, wenn bei ihnen vergleichsweise hohe Glutamatkonzentrationen im Gehirn gemessen werden.^[347]

B.3. Apoptose

Wie schon beschrieben sind die Apoptose und die Nekrose die zwei wesentlichen Formen des neuronalen Zelltods. Während es sich bei dem nekrotischen Zelltod um einen passiven und ausschließlich pathologischen Prozess handelt, stellt die Apoptose in höheren Organismen eine aktive, physiologische Reaktion dar. Hierbei muss zur Synthese der einzelnen Faktoren der Signalkaskaden sowie für deren Aktivierung Energie aufgewendet werden. Sowohl durch Apoptose als auch durch Nekrose kommt es bei neurodegenerativen Erkrankungen zum Verlust von Neuronen.^[348]

In nekrotischen Zellen schwellen zunächst die Mitochondrien und später die gesamte Zelle an. Nach der Lyse der Zelle gelangt Zellinhalt in das Interstitium, was mit einer Entzündungsreaktion und Vernarbung einhergeht. Im Gegensatz dazu beobachtet man bei apoptotischen Zellen eine Reduktion des Zellvolumens und ein Schrumpfen des Zellkerns. Das Chromatin kondensiert und fragmentiert, zusätzlich schnüren sich Teile der Zellmembranen als Vesikel ab („blebbing“). Die Reste der Zelle werden durch Phagozytose aufgenommen. Auf diese Weise bleibt eine Immunantwort aus und in Nachbarschaft gelegenes Gewebe wird nicht geschädigt.^[348] Nekrose kann jedoch auch als gerichteter Prozess ablaufen. Diese sogenannte „Nekroptose“ tritt u. a. bei neurodegenerativen Prozessen auf und äußert sich durch aktiven Abbau von Membranen der Mitochondrien und anderer Organellen.^[349]

Apoptose ist für die Homöostase von auf- und abbauenden Vorgängen von Gewebe, Zelldifferenzierung und für das Aussortieren von alten, beschädigten oder autoimmunen Zellen unerlässlich. Bereits in der Embryonalentwicklung erhalten Hände und Augen durch Apoptose von nicht benötigten Zellen ihre Form, und im Gehirn werden funktionsfähige neuronale Netzwerke geformt. Entartete Zellen oder solche, die einer starken mutagenen Noxe wie UV-Strahlung ausgesetzt wurden, werden entfernt, bevor sich ein Tumor entwickeln kann.

Neben diesen physiologischen Funktionen findet man apoptotische Neurone jedoch auch bei neurodegenerativen Erkrankungen, ischämischem Insult und traumatischen Hirnverletzungen. Es ist nicht immer klar, durch welche Faktoren Apoptose induziert wird. Einiges deutet aber auf eine wichtige Rolle von reaktiven Sauerstoffspezies (*reactive oxygen species*, ROS) und von Glutathionmangel bei der Aktivierung intrinsischer Signalkaskaden in Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen und Ischämie.^[350,351,352,353,354] Bei der traumatischen Hirnverletzung ist die glutamaterge Exzitotoxizität und die Generation von ROS sowie nicht-physiologischen Ca^{2+} -Spiegeln für den Verlust von Neuronen verantwortlich. Hier können sowohl Radikalfänger als auch NMDA-Antagonisten den Verlust von Neuronen im Tierversuch

kann durch den Funktionsverlust des Mitochondriums direkt zum Zelltod führen.^[366] Außerdem kann der Zelltod Caspase-vermittelt erfolgen. Caspasen sind Cystein-Proteasen, die ihr Substrat nach der AS Aspartat spalten. Sie lassen sich in Initiator-Caspasen (z. B. Caspase-8 und -9) und Effektor-Caspasen (z. B. Caspase-3 und -7) einteilen. Initiator-Caspasen vermitteln Signale der Apoptosekaskade, indem sie u. a. Effektor-Caspasen aktivieren, die schließlich den Zelltod auslösen können.

Aus den Mitochondrien ausgetretenes Cyt c wirkt ebenfalls als ein vermittelnder Faktor, der zum Zelltod führen kann. Hierbei bildet Cyt c gemeinsam mit Apaf-1 das Apoptosom, einen großen, heptameren Proteinkomplex. Dieser kann Procaspase-9 binden und aktivieren.^[367] Caspase-9 kann im Folgenden Caspase-3 aktivieren, die eine Schlüsselfunktion in der Apoptose hat: Zum einen spaltet Caspase-3 den inhibitorisch wirkenden Faktor *inhibitor of caspase activated DNase* (ICAD) direkt oder über Aktivierung von Caspase-7. Der nun freie proapoptotische Faktor CAD kann im Zellkern gezielt DNS spalten und so den Zelltod auslösen. Zum anderen kann Caspase-3 verschiedene Substrate im Zytosol umsetzen und auf diese Weise zum Zelltod führen. Ebenfalls zum Untergang des Neurons führt aus permeabilisierten Mitochondrien austretendes AIF. Dieser proapoptotische Faktor kann jedoch Caspase-unabhängig bereits wenige Minuten nach seiner Freisetzung DNS-Schäden im Zellkern auslösen.^[368,369]

Ein weiterer Caspase-abhängiger Weg zur Apoptose erfolgt durch Smac/DIABOLO aus den Mitochondrien.^[370] Im Zytosol hemmt dieser Faktor anti-apoptotisch wirkende Inhibitoren der Apoptose (*inhibitors of apoptosis*, IAPs) und führt auf diese Weise zu einer erhöhten Aktivität von z. B. Caspase-9 und der Effektor-Caspase-3.^[371]

Der extrinsische Signalweg wird durch die Aktivierung eines entsprechenden Rezeptors auf der Zelloberfläche durch einen Fas-Ligand (FasL), TNF oder einen anderen „Todesliganden“ aktiviert. In der Folge bildet sich ein Komplex (*death-inducing signalling complex*, DISC) aus dem intrazellulären Teil des Rezeptors, dem Adapterprotein FADD (*Fas-associated protein with death domain*) und der Procaspase-8.^[372] Dadurch wird die Caspase-8 gebildet, die einen weiteren Faktor mit Schlüsselfunktion darstellt. Caspase-8 kann einerseits die Effektor-Caspase-3 aktivieren, was, wie schon beschrieben, zum Caspase-abhängigen Zelltod führen kann. Andererseits stellt sie das Bindeglied zum intrinsischen Apoptoseweg dar, indem sie Bcl-2-Proteine wie das *BH3 interacting-domain death agonist* (Bid)-Protein durch Spaltung zum *truncated Bid* (tBid) aktiviert. Es wurde außerdem gezeigt, dass Bid durch Calpaine gespalten werden kann.^[373] Calpaine sind Cystein-Proteasen, die durch hohe Ca^{2+} -Konzentra-

tionen aktiviert werden, wie sie beim ischämischen Infarkt, beim Hirntrauma und bei der NMDAR-vermittelten Exzitotoxizität auftreten (Abb. 78).^[374] Außerdem wird eine Rolle der Calpaine bei einer möglichen Spaltung von AIF vor seiner Überführung in den Zellkern diskutiert.^[375]

Apoptose wird also in komplexen, unterschiedlichen Signalkaskaden durch Initiatoren und Effektoren geregelt. Im Krankheitsgeschehen fast aller neurodegenerativer Erkrankungen wird eine Beteiligung der Apoptose diskutiert.^[376,377,378,379,380] Diese Ergebnisse stammen jedoch meist aus Tiermodellen oder Versuchen mit präparierten Organen. Wie schon beschrieben, sind die Ergebnisse aus Tiermodellen nur begrenzt auf die Krankheit des Menschen übertragbar. Insgesamt werden weder *in vitro*- noch Tierversuche dem langsamen und immer progressiven neuronalen Zelluntergang bei neurodegenerativen Erkrankungen gerecht.^[380]

B.3.2. Bid und die Familie der Bcl-2-Proteine

Die Familie der Bcl-2 (*B-cell lymphoma*)-Proteine besteht aus pro- und anti-apoptotischen Faktoren. Als homologes Merkmal besitzen sie alle BH (Bcl-2 homology)-Domänen, über die sie mit anderen Bcl-2-Proteinen interagieren, um Apoptose entweder auszulösen oder zu hemmen.^[381,382] Auch eine Oligomerisierung, beispielsweise des Proteins Bax bei der Permeabilisierung der äußeren Mitochondrienmembran, erfolgt durch Interaktion über diese BH-Domäne. Bis heute sind vier Typen von BH-Domänen, BH1 bis BH4, bekannt.^[383]

Sogenannte *BH3-only*-Proteine, wie z. B. Bid, beinhalten als gemeinsames Merkmal ausschließlich die kurze, 15 AS umfassende BH3-Aminosäuresequenz (Abb. 79).^[384] Alle *BH3-only*-Proteine wirken pro-apoptotisch und lösen nach ihrer Aktivierung den Zelltod aus. Zumindest einige von ihnen können die Bcl-2-Proteine Bax und Bak direkt aktivieren, sodass Cyt c und weitere proapoptotische Faktoren aus den Mitochondrien freigesetzt werden. Nach heutigen Erkenntnissen gibt es Redundanzen in den Funktionen der *BH3-only*-Proteine, denn manche *knockout*-Zelllinien zeigen keine oder nur geringe Defekte oder Resistenzen gegen Apoptose.^[383]

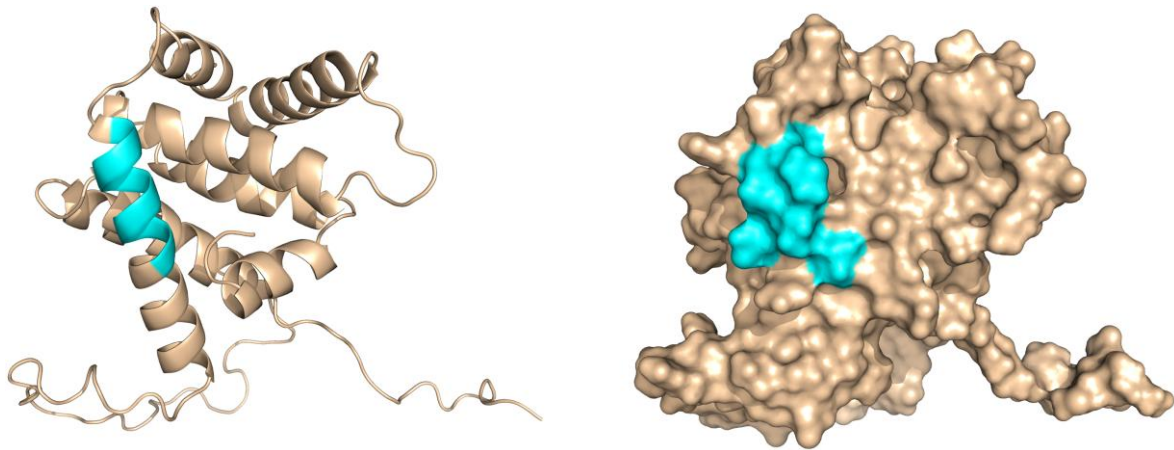


Abbildung 79: Eine Lösung der NMR-Strukturen des humanen Bid-Proteins von CHOU et al. (PDB 2BID^[385]). Links: Sekundärstruktur, dargestellt als Cartoon. Rechts: Gleicher Blickwinkel, visualisierte Oberfläche. Cyan: BH3-Domäne. BH3-AS-Sequenz gemäß WANG et al.^[386] Visualisiert mit PyMOL.^[166]

Das *BH3-only*-Protein Bid (22 kD) befindet sich hauptsächlich im Zytosol der Zelle. Es kann durch Caspase-8 und Calpaine zu tBid (15 kD), seiner aktiven Form, gespalten werden. Hierdurch wird zum einen die BH3-Domäne freigelegt und zum anderen die Lipophilie der Proteinoberfläche erhöht. tBid akkumuliert nun an den Mitochondrien, wo es sich als integrales Membranprotein einlagert.^[387,388] Hier vermittelt das Protein zum einen die Verlagerung von Bax aus einem inaktiven Komplex u. a. mit dem antiapoptotischen Faktor *B-cell lymphoma-extra large* (BCL-xl) zu den Mitochondrien. Zum anderen aktiviert tBid an der äußeren Mitochondrienmembran Bax und Bak. Diese bilden daraufhin durch Oligomerisierung Poren, durch die proapoptotische Faktoren aus dem Mitochondrien in das Zytoplasma gelangen. Neben diesen aktivierenden Funktionen hemmt tBid außerdem an der Mitochondrienmembran den anti-apoptotischen Faktor BCL-xl.

Durch die Calpain-Aktivierung wirkt Bid als Mediator von zytotoxischen Ca^{2+} -Konzentrationen und Bax/Bak-induzierter Permeabilisierung der Mitochondrien.^[389] Auch in Zellen, die keine NMDA-Rezeptoren exprimieren, induziert Bid Apoptose. In diesem Fall wird Bid durch Erschöpfung des Antioxidans Glutathion und der darauf folgenden vermehrten Bildung von ROS aktiviert.^[352,354,390] Eine Inhibition von Bid durch einen kleinen synthetischen Liganden oder durch siRNA rettet sowohl HT-22 Zellen als auch primäre hippocampale und kortikale Neurone vor Glutamat-induzierter Apoptose.^[368,390,391,392] Außerdem zeigen Bid-*knockout*-Mäuse nach fokaler Ischämie einen deutlich kleineren Infarkttherd als Wildtyp-Mäuse. Bei diesen wird während eines ischämischen Insults Bid zu tBid gespalten, was zu einer Vergrößerung des Infarkttherdes durch Apoptose führt.^[393]

Durch die Aktivierung von Bid durch Caspase-8 wird der extrinsische Signalweg mit der Permeabilisierung der Mitochondrien des intrinsischen Signalwegs verknüpft. tBid gelangt zu den Mitochondrien, wo es die Freisetzung von Cyt c und anderen proapoptotischen Faktoren vermittelt.^[394] In Hepatozyten z. B. ist Bid ein essenzieller Faktor für die Fas-induzierte Apoptose: Bid-*knockout*-Mäuse zeigen nach Injektion des Fas-Liganden zwar Aktivierung von Caspase-8, überleben jedoch fast immer, wohingegen alle Mäuse vom Wildtyp an Apoptose von Hepatozyten sterben.^[395]

Die *knockout*-Versuche in der Maus sowie pharmakologische Inhibition von Bid deuten auf eine zentrale Rolle des *BH3-only*-Proteins sowohl bei der Zellstress- als auch Rezeptor-aktivierten Apoptose von Neuronen und anderen Zelltypen. Vieles spricht dafür, dass eine Inhibition von Bid durch kleine synthetische Moleküle zumindest *in vitro* neuroprotektiv wirkt. Insgesamt stellt der proapoptotische Faktor Bid ein vielversprechendes *target* für die Entwicklung von potenziellen Wirkstoffen gegen neuronalen Zelltod dar.

B.4. Entwicklung von Wirkstoffen gegen neuronalen Zelltod

Im Oktober 2011 befanden sich über 1.000 Wirkstoffe zur Therapie neurodegenerativer Erkrankungen in der Entwicklung oder in klinischen Studien der Privatwirtschaft.^[315] Trotz steigender Forschungsbemühungen (Abb. 80) existieren zurzeit keine Wirkstoffe, die den neuronalen Zelltod bei akuten oder chronischen neurodegenerativen Erkrankungen verhindern können. Alle heute zugelassenen Medikamente wirken symptomorientiert, meist auf progrediente kognitive und motorische Störungen.

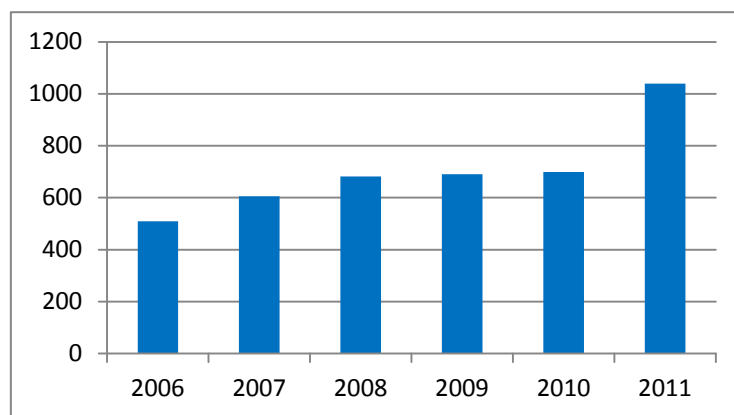


Abbildung 80: Entwicklung der Wirkstoffentwicklung gegen neurodegenerative Erkrankungen. Die Balken zeigen präklinische und klinische Entwicklungskandidaten in der Privatwirtschaft.^[315,396,397,398,399,400]

Besonders auffällig ist die hohe Rate an fehlgeschlagenen klinischen Studien, obwohl im Vorfeld eine gute Wirksamkeit im Tiermodell gezeigt werden konnte. Es zeigt sich, dass aktuelle Tiermodelle nicht immer auf die Krankheit des Menschen übertragbar sind. Die Effektoren des programmierten neuronalen Zelltods sind komplex vernetzt und haben teils redundante und teils nicht endgültig geklärte Funktion. Im Tier lässt sich das gleiche Symptom potenziell über verschiedene Mechanismen produzieren, die jedoch möglicherweise nicht Krankheitsrelevant sind. Ein Tiermodell wird seiner Krankheit im Menschen jedoch nur gerecht, wenn es nicht nur die gleichen Symptome auslöst, sondern die ursächlichen Pathomechanismen genau berücksichtigt.

Ein Wirkstoff-*target* wird oft durch *knockout* des entsprechenden Gens im Versuchstier evaluiert. Durch pharmakologische Inhibition des entsprechenden Genproduktes eine ähnliche Effektivität zu erreichen, stellt jedoch hohe Anforderungen an einen potenziellen Wirkstoff. ZNS-wirksame Inhibitoren müssen entweder selbst eine ausreichende Lipophilie aufweisen, um die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden oder als *prodrug* lipophil maskiert sein.^[401] Au-

ßerdem umfasst die Blut-Hirn-Schranke unter anderem ABC-Transporter wie das p-Glykoprotein, welche die meisten Wirkstoffe äußerst schnell aus dem ZNS entfernen.^[402,403]

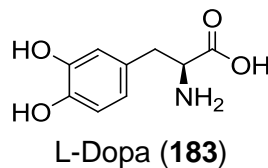


Abbildung 81: Chemische Struktur des Parkinson-Therapeutikums L-Dopa.

Weitere limitierende Faktoren für die Anwendung potenziell neuroprotektiver Wirkstoffe sind Nebenwirkungen der Therapie oder abnehmende Wirksamkeit: Beispielsweise zeigen NMDAR-Antagonisten im Tiermodell eine gute neuroprotektive Wirkung gegen exzitotoxischen neuronalen Zelltod. In mehreren klinischen Studien konnte dieser Effekt, hauptsächlich auf Grund schwerer psychomimetischer Nebenwirkungen, jedoch nicht reproduziert werden.^[404,405,406] Ein weiteres rein symptomatisches Behandlungskonzept mit ausgeprägten Nebenwirkungen stellt die Therapie der Parkinson-Krankheit durch L-Dopa (**183**, Abb. 81) dar. Der dopaminerge Wirkstoff kann beim Patienten nach längerer Behandlung an Effektivität verlieren („*wearing-off-effect*“) oder Akinesien und Dykinesien auslösen („*End-of-dose dyskinesia*“, „*on-off-effect*“). Außerdem können, neben weiteren Nebenwirkungen, ein Symptom des Verharrens in der Bewegung („*freezing*“) sowie psychotische Symptome auftreten. Eine Therapie, die den Verlust von Neuronen verhindern kann, ist nicht verfügbar.

Zur Therapie akuter neuronaler Defekte wie Trauma oder ischämischem Insult sind, abgesehen von Thrombolytika und Antikoagulantien, keine Wirkstoffe zur Behandlung der Neurodegeneration zugelassen. Zahlreiche neuroprotektive Wirkstoffkandidaten zur Therapie des Schlaganfalls, z. B. erwähnte NMDAR-Antagonisten, zeigen eine gute Wirkung im Tiermodell. In klinischen Studien erweisen sie sich jedoch als ausnahmslos ineffektiv.^[407,408,409]

Das Konzept der mitochondrialen Protektion durch Inhibition eines proapoptotischen *BH3-only*-Proteins hat den Vorteil, dass es vergleichsweise spät in der apoptotischen Kaskade eingreift. Außerdem wurde für das Bid-Protein gezeigt, dass seine Inhibition Zellen *in vitro* sowohl vor ROS-vermittelter Apoptose als auch nach FasR-Aktivierung schützt.^[368,390,391,392,395] Verglichen mit den bisherigen Therapiestrategien könnte ein mitoprotektiver Wirkstoff kausal vor einem Zelltod schützen, der durch unterschiedliche pathologische Signalwege induziert wird.

B.4.1. Grenzen von Testsystemen bei der Entwicklung neuroprotektiver Wirkstoffe

Wie bereits beschrieben, besteht bei der Entwicklung von Neuroprotektiva allgemein ein starker Kontrast zwischen den Ergebnissen aus Tiermodellen und aus klinischen Studien. Es fehlen geeignete Testsysteme, die nicht nur die Symptome, sondern die Mechanismen der jeweiligen neurodegenerativen Erkrankung reproduzieren. Tiermodelle, die ein möglichst entsprechendes Krankheitsbild durch Intoxikation mit einem Wirkstoff oder durch genetische Modifikation induzieren, können nicht die langsam-progredienten Krankheitsmechanismen im Menschen simulieren. Neben dem charakteristischen Patientenalter sind weitere Eigenschaften der menschlichen Physiologie nicht übertragbar: Bestimmte Formen der Neurodegeneration sowie charakteristische pathologische Strukturen im Hirngewebe findet man nur im Menschen.^[410] Da die Symptome oft allein vom Ort der neuronalen Läsion abhängig sind, lassen sie sich mit einem Toxin durch gezielte Zerstörung in eben diesem Gebiet unabhängig vom pathologischen Mechanismus reproduzieren. Dabei ist es fraglich, ob dieses Modell der idiopathischen Verlaufsform gerecht wird. Oft ist unklar, ob eine für die jeweilige Krankheit charakteristische pathologische Veränderung nur ein sekundäres Symptom ist. Ein solches würde dann, im Tiermodell einzeln reproduziert, das wirkliche Krankheitsgeschehen nur unzureichend darstellen.^[411,412,413]

Neuronale *in vitro* Modelle verwenden aus ihrem biologischen Kontext isoliertes Material. Auf diese Weise erzielte Ergebnisse lassen sich nur mit Vorsicht auf den gesamten Organismus übertragen.^[414] Auch hier lassen sich beobachtete zelluläre und subzelluläre pathologische Strukturen nicht immer reproduzieren.^[410] Wichtige Biomarker können chemisch instabil oder aus einem anderen Grund nicht detektierbar sein und im Experiment zu falsch-negativen Ergebnissen führen.^[415] Anders als viele andere Organe ist das Gehirn bezüglich seiner Zellarten und deren Funktion recht heterogen. Korticale und subkorticale Regionen können sich in ihrer Funktion vollständig unterscheiden und von einer neurodegenerativen Erkrankung unterschiedlich betroffen sein.^[416] Ein Assay, der Zellen nur einer Art verwendet, wird dieser Komplexität möglicherweise nicht gerecht.^[417,418]

B.4.2. Messung der Glutamatoxizität an HT-22 Zellen

Außer auf ionotrope und metabotrope Glutamatrezeptoren wirkt Glutamat auch auf den Cystein-Glutamat-Antiporter (xCT).^[419] Dies führt zu einer intrazellulären Verarmung an Cystein und des cysteinhaltigen Tripeptids GSH. Ohne dieses wichtige physiologische Antioxidans

stirbt die Zelle an oxidativem Stress. Diese oxidative Glutamatoxizität^[419] lässt sich u. a. durch Antioxidantien verhindern.

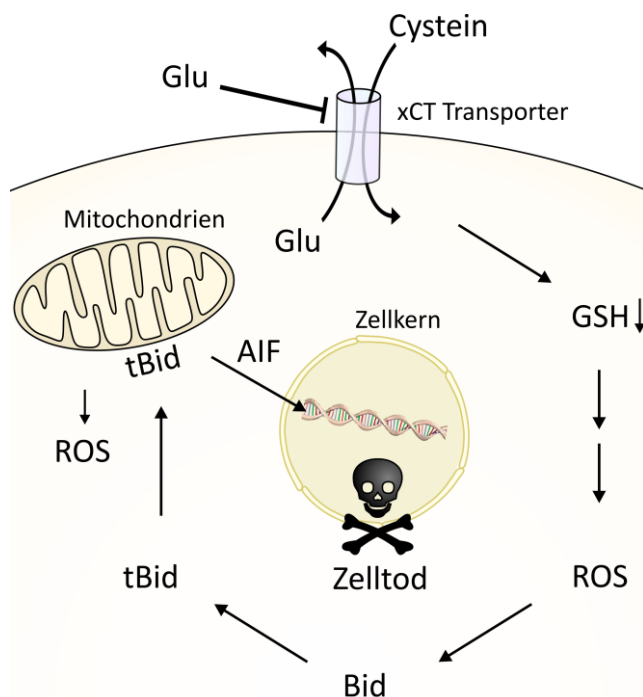


Abbildung 82: Glutamatoxizität in HT-22 Zellen. xCT: Cystein-Glutamat-Antiporter. GSH: Glutathion. Modifiziert und vereinfacht nach OPPERMANN.^[420]

HT-22 Zellen sind immortalisierte hippocampale Neurone der Maus. Sie exprimieren keine ionotropen Glutamat-Rezeptoren auf der Zelloberfläche^[421] und reagieren auf toxische Glutamatkonzentrationen mit einer Apoptose-ähnlichen Form des programmierten Zelltods. Daher eignet sich die Zelllinie besonders als Modell für den neuronalen Zelltod durch oxidative Glutamatoxizität. Durch die Blockade des xCT-Transporters verarmt die Zelle am Antioxidans GSH und die Konzentration von ROS steigt an.^[422] Diese oxidativen Spezies aktivieren über Bid den intrinsischen Signalweg der Apoptose, was zum Zelltod durch proapoptotische Faktoren wie AIF aus den Mitochondrien führt (Abb. 82).

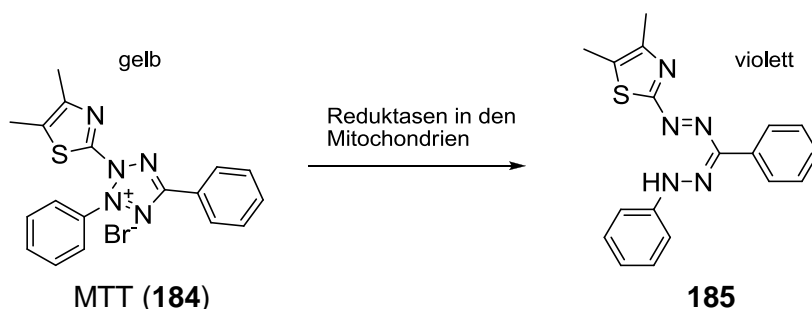


Abbildung 83: Farbreaktion im MTT-Assay.

Der MTT-Assay ist eine häufig verwendete Methode, um Proliferation und Viabilität von Zellen indirekt zu messen. Das Prinzip des Assays beruht auf der intrazellulären Reduktion des gelben Tetrazolderivats 2-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-3,5-diphenyl-2*H*-tetrazol-3-iumbromid (MTT) zu einem wasserunlöslichen, violetten Formazanderivat (Abb. 83). Die Konzentration des Produkts kann photometrisch bestimmt werden. Hieraus lässt sich die Viabilität der Mitochondrien und indirekt die Viabilität der Zellpopulation ermitteln.^[423]

In einem MTT-Assay unter Verwendung der HT-22 Zelllinie lässt sich die Wirkung von toxischen Glutamatkonzentrationen auf die Viabilität der Zellen messen. Wurde ermittelt, wie groß der Anteil der überlebenden Zellen sowohl mit als auch ohne Glutamatschädigung ist, lässt sich in weiteren Experimenten der Einfluss äußerer Faktoren auf die Glutamattoxizität evaluieren. Hierbei werden dieselbe Glutamatkonzentration und dieselbe Zellpopulation verwendet, um weitere Ergebnisse möglichst reproduzierbar zu gestalten. Beispielsweise kann so die mitoprotektive Wirkung pharmakologischer Inhibitoren getestet werden.

Ein Nachteil ist, dass mit diesem Assay nicht differenziert werden kann, auf welche Weise der Wirkstoff die Zelle gegebenenfalls schützt. Ein positives Ergebnis ist potenziell durch Antioxidantien und jeden Inhibitor eines essenziellen Enzyms der folgenden Signalkaskade möglich. Soll es sich bei der getesteten Verbindung jedoch um einen Inhibitor eines oder mehrerer dieser essenziellen Faktoren handeln, muss der Assay im Umkehrschluss ein positives Ergebnis zeigen. Nicht-zellgängige, oder z. B. im Medium präzipitierende Verbindungen können kein positives Ergebnis liefern (außer sie reagieren mit dem MTT-Reagenz). Derartige Substanzen wären auch *in vivo* wahrscheinlich unwirksam. Außerdem lassen sich Verbindungen ausschließen, die keine inhibitorische Wirkung auf eine essenzielle Zielstruktur zeigen. Der MTT-Assay ist zudem recht kostengünstig, was einen weiteren Vorteil darstellt.^[423]

B.4.3. Antiapoptotische Substanzen in der Entwicklung

Von den erwähnten ca. 1.000 Wirkstoffkandidaten zur Therapie neurodegenerativer Erkrankungen wird für 17 ein antiapoptotischer Wirkmechanismus beansprucht.^[315] Die Indikationen dieser Wirkstoffe umfassen Schmerzen bei diabetischer Neuropathie,^[424,425] Alzheimer-Krankheit,^[426,427,428,429] schwere Depression,^[426] Tumor,^[430,431] immunologische Reaktionen,^[432,433] akute zerebrale Ischämie/Insult,^[434,435,436] Retinitis,^[437] spinale Muskelatrophie,^[438] Amyotrophe Lateralsklerose^[439,440] und durch Aminoglykoside und akustisches Trauma induzierte Schädigung der Haarzellen und damit zusammenhängender Hörverlust.^[441] Eine antiapoptotische Therapie soll, im Gegensatz zu einer symptomatischen Therapie, kausal auf eine gemeinsame Ursache dieser Erkrankungen wirken. Die Liste der Indikationen ist daher ungewöhnlich heterogen, zeigt aber das theoretische Potenzial eines effektiven neuroprotektiven Wirkstoffs.

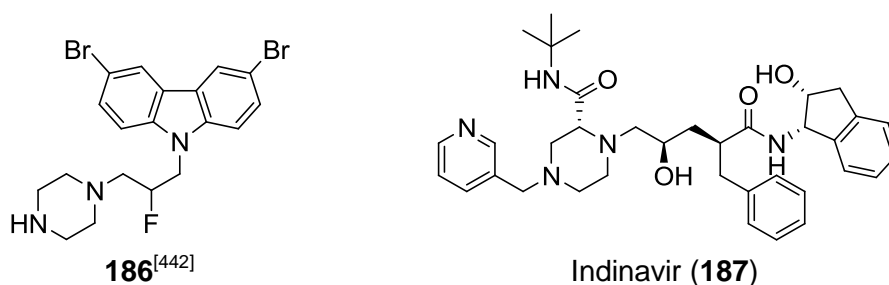


Abbildung 84: Chemische Strukturen eines Bax-Inhibitors (**186**) und eines HIV-Proteasehemmers (**187**).

Inhibitoren gegen Proteine der Bcl-2-Proteinfamilie wurden bisher kaum entwickelt. Ein Beispiel stellen Carbazolderivate wie **186** dar, die von BOMBRUN et al.^[442] als Modulatoren der von Bax gebildeten Kanäle entwickelt wurden (Abb. 84). In einem Liposomen-basierten Modell-Assay verhindern die Inhibitoren in submikromolaren Konzentrationen das Austreten eines Fluoreszenzfarbstoffs aus den Mikrosomen durch Bax-Oligomerisierung.

Für Proteaseinhibitoren wie Indinavir (**187**), die ursprünglich aus der Therapie HIV-Erkrankter stammen, konnte auch eine inhibitorische Wirkung auf Calpaine gezeigt werden. Da eine Beteiligung von Calpainen bei der Aktivierung des proapoptotischen Faktors Bid bekannt ist, könnte eine solche Verbindung neuroprotektiv wirken. Tatsächlich beschreiben GHIBELLI et al.^[443] eine anti-apoptotische Wirkung von HIV-Protease-Inhibitoren, ohne dass diese eine Wirkung auf Caspasen ausüben.

B.4.4. Bid-Inhibitoren

BI-6C9 (**191**) und BI-11A7 (**192**) sind nichtpeptidische Inhibitoren des *BH3-only*-Proteins Bid und wurden von BECATTINI et al.^[391,392] entwickelt. Als gemeinsames Merkmal weisen diese Substanzen eine 4-(4-Aminophenylsulfanyl)phenylpartialstruktur auf. Um zu diesen Verbindungen zu gelangen, wurden Lösungen von potenziellen Inhibitoren und des Bid-Proteins in 2D [¹H,¹H]-NOESY (*nuclear Overhauser enhancement and exchange spectroscopy*)-Experimenten vermessen. Für den kleinen Liganden BI-2A7 (**188**) wurden Wechselwirkungen mit der Zielstruktur gefunden. BI-2A7 (**188**) inhibiert außerdem in einer Konzentration von 50 μ M die Freisetzung des proapoptotischen Faktors Smac aus isolierten Mitochondrien durch tBid um 22 %.^[391] Für keinen weiteren Liganden aus der Substanzbibliothek wurde eine höhere Wirkung gezeigt. Die Experimente deuten außerdem darauf, dass zwei weitere Liganden, BI-2A1 (**189**) und BI-2A2 (**190**), in Nachbarschaft zu BI-2A7 (**188**) an das Protein binden. Für diese Liganden konnte aber keine Inhibition der Freisetzung von Smac gezeigt werden. Die Fragmente wurden formal kombiniert und die Bid-Inhibitoren BI-6C9 (**191**) und BI-11A7 (**192**) wurden synthetisiert (Abb. 85).^[391,392] Da diese Verbindungen strukturell nicht weiter derivatisiert wurden und insgesamt nur wenige aktive Verbindungen gezeigt werden, lassen sich kaum Struktur-Wirkungsbeziehungen ableiten.

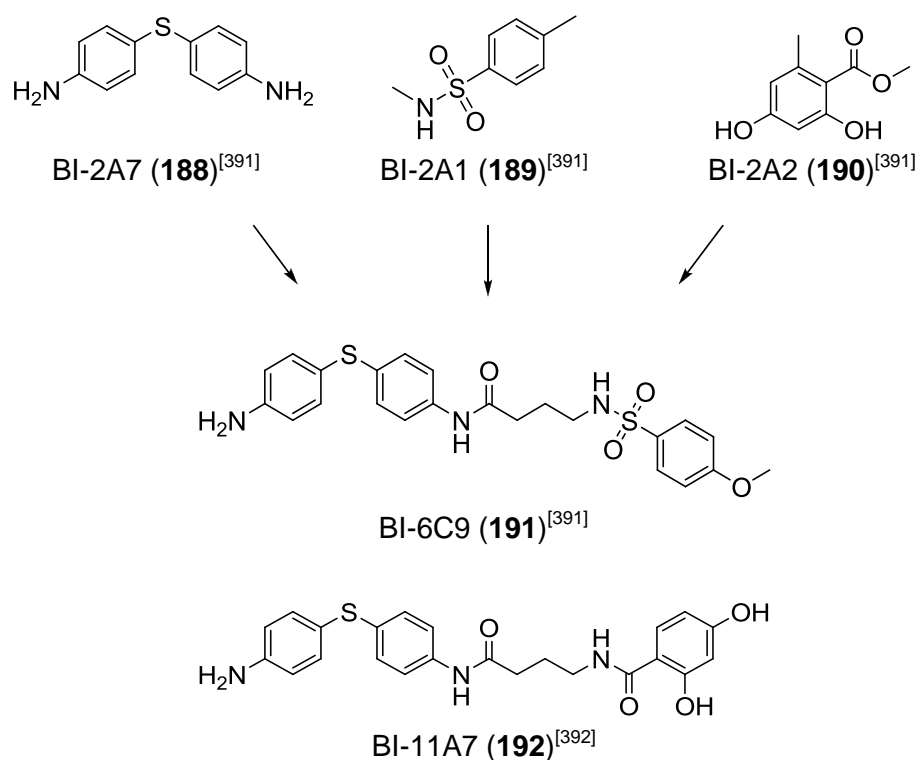


Abbildung 85: Chemische Strukturen der von BECATTINI et al.^[391,392] entwickelten Bid-Inhibitoren.

BI-6C9 (**191**) zeigt *in vitro* eine ausgeprägte neuroprotektive Wirkung. HT-22-Zellen werden durch die Verbindung vollständig vor glutamatinduziertem Zelltod geschützt. Es konnte außerdem gezeigt werden, dass tBid in diesem Experiment nicht mehr an der äußeren Mitochondrienmembran nachweisbar ist. BI-6C9 (**191**) wirkt hier auch protektiv, wenn es bis zu 8 h nach Glutamatexposition angewendet wird, obwohl tBid bereits nach 5 h an der äußeren Mitochondrienmembran nachgewiesen wurde.^[388] Ein zytoprotektiver Effekt von BI-6C9 (**191**) lässt sich auch in Krebszellen nachweisen. So kann Oxaliplatin^[444,445]-, Etoposid^[445]- und Doxorubicin^[445]-induzierte Apoptose in HeLa-Zellen signifikant reduziert werden.

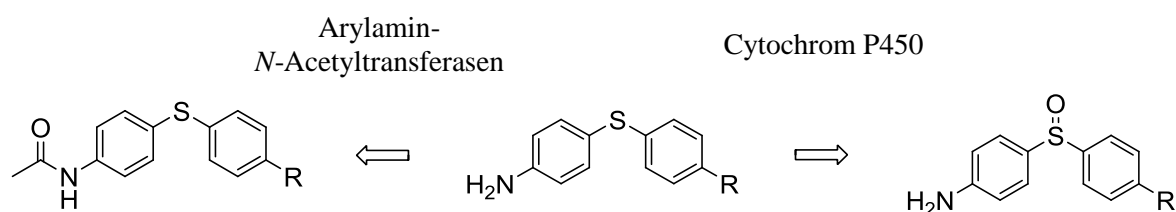


Abbildung 86: Metabolisierung von Sulfanyl- und aromatischen Aminoderivaten.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen aus *in vitro* Versuchen lässt sich in Tiermodellen für akute neuronale Schädigung kein protektiver Effekt für BI-6C9 (**191**) messen. Ein Grund für die fehlende Wirkung könnten mangelhafte strukturelle Eigenschaften sein. Der Inhibitor passiert möglicherweise nicht die Blut-Hirn-Schranke bzw. ist ein Substrat eines ABC-Transporters. Auch eine schnelle metabolische Inaktivierung ist denkbar. Potenzielle metabolisch anfällige Strukturen stellen die aromatische Aminogruppe, sowie die Sulfanylfunktion dar. Arylamin-N-Acetyltransferasen^[446] übertragen im Mensch und in der Maus Acetylgruppen von Acetyl-CoA auf Hydrazin- und Arylaminderivate, um diese zu detoxifizieren.^[447,448] Sulfanylfunktionen können in der Leber der Ratte metabolisch zu Sulfoxiden und zu Sulfonen oxidiert werden (Abb. 86).^[449,450,451,452] Diese Metabolite sind dann möglicherweise unwirksam und so für die fehlende Wirkung *in vivo* von BI-6C9 (**191**) verantwortlich. Schließlich wird eine Sulfo-namid-Struktur mit einer hohen Plasmaprotein-Bindung in Verbindung gebracht. Derartig gebundene BI-6C9 (**191**) Moleküle wären nicht im ZNS verfügbar.^[453]

B.5. Aufgabenstellung

Zur Therapie des progredienten neuronalen Zelltods bei ischämischem Insult, Hirntrauma und neurodegenerativen Erkrankungen steht keine effektive neuroprotektive Therapie zur Verfügung. Heute eingesetzte Wirkstoffe wirken symptomorientiert und können langfristig eine Degeneration von Neuronen nicht verhindern. Als gemeinsames Merkmal für diesen Prozess wurde die neuronale Apoptose identifiziert, die durch oxidativen Stress und pathologische intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentrationen ausgelöst werden kann.^[376,377,378,379,380]

Es wurde gezeigt, dass dem Bcl-2-Protein Bid bei der Permeabilisierung und Fragmentierung von Mitochondrien im Rahmen der Glutamat- und FAS-induzierten Apoptose eine Schlüsselrolle zukommt.^[394] Inhibition dieses proapoptotischen Faktors durch die experimentellen Inhibitoren BI-6C9 (**191**) und BI-11A7 (**192**) schützt sowohl HT-22-Zellen als auch primäre hippocampale und kortikale Neurone deutlich vor Glutamat-induzierter Apoptose.^[391,392] Obwohl Bid-*knockout*-Mäuse beispielsweise nach einem Hirntrauma weniger neuronale Schäden zeigen,^[454] wirkt das kleine Molekül BI-6C9 im Tiermodell jedoch nicht neuroprotektiv.^[455]

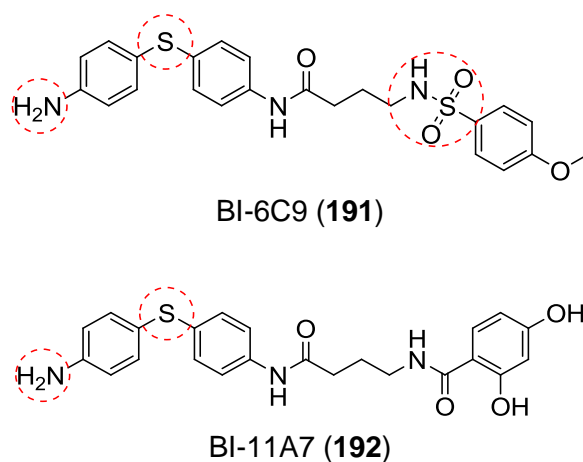


Abbildung 87: Chemische Strukturen der Bid-Inhibitoren BI-6C9 und BI-11A7, markiert sind Strukturelemente, die möglicherweise für die fehlende Wirkung *in vivo* verantwortlich sind.

Ziel des zweiten Teils der vorliegenden Arbeit ist die strukturelle Optimierung von BI-6C9 (**191**), um so zu potenziellen Bid-Inhibitoren zu gelangen, die im Tiermodell für Ischämie und Trauma die Degeneration von Neuronen verhindern können. Da das *target* in der Maus validiert ist, wird davon ausgegangen, dass die fehlende Wirkung *in vivo* ausschließlich auf pharmakokinetischen Gründen^[447,448] beruht. Daher sollte insbesondere von der aromatischen Aminogruppe, sowie von der Sulfanyl- und der Sulfonamidfunktion abgesehen werden und diese, wenn nötig, äquivalent substituiert werden (Abb. 87). In vorherigen Arbeiten^[456] wurde versucht, diese Strukturelemente durch Gruppen zu ersetzen, die potenziell die gleichen Bin-

dungseigenschaften aufweisen. Gleichzeitig wurde das Molekülgerüst im Wesentlichen beibehalten. Da keines aus einer Vielzahl von synthetisierten Derivaten das Überleben von HT-22-Zellen nach Glutamat-induzierter Apoptose signifikant erhöhte, sollten im Folgenden kleinere Fragmente synthetisiert werden. Auf diese Weise sollte u. a. eruiert werden, welche Partialstrukturen von BI-6C9 (**191**) für die Wirkung essenziell sind. Im MTT-Assay wirksame Verbindungen sollten dann strukturell weiter optimiert werden.

Ein im Tierexperiment wirksamer Bid-Inhibitor wäre wertvoll, um regulative Mechanismen des neuronalen Zelltods *in vivo* zu charakterisieren. Gleichzeitig würde eine derartige Verbindung einen Ansatzpunkt zur Entwicklung potenzieller Therapeutika von Erkrankungen mit neuronal-apoptotischen Pathomechanismen darstellen.

B.6. Präparative Arbeiten und Ergebnisse der biologischen Testung

Um *in vivo* wirksame Derivate von BI-6C9 (**191**) zu erhalten, variierten DEGENHARDT und MUELLER^[456] in vorangegangenen Arbeiten das Grundgerüst des Bid-Inhibitors. Hierzu wurde die Struktur des Moleküls, ähnlich der bereits beschriebenen rekombinanten *virtual library*, unter Berücksichtigung eines Synthesewegs in Fragmente zerlegt. Durch eine computergestützte Variation der einzelnen Fragmente wurde eine virtuelle Substanzbibliothek erstellt. Aus dieser konnten durch ein weiteres Programm Verbindungen ausgewählt werden, deren funktionelle Gruppen weiterhin die gleiche räumliche Anordnung zueinander zeigten. Derartige Verbindungen weisen die gleichen potenziellen Bindungseigenschaften wie die Ausgangsverbindung auf, obwohl sie sich strukturell unterscheiden (*scaffold hopping*).

Tabelle 19: Zur Synthese von Derivaten von BI-6C9 (**191**) kombinierte Fragmente.^[456]

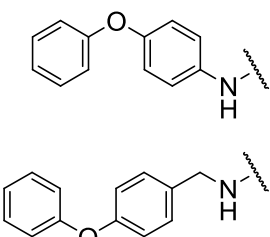
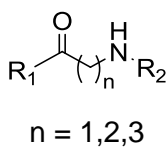
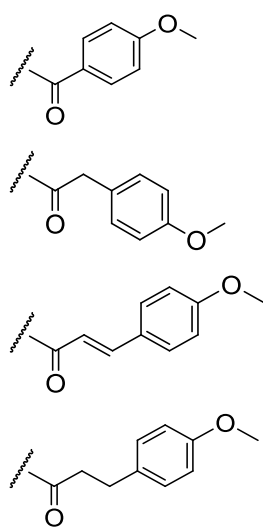
R1		R2
	 <p>$n = 1, 2, 3$</p>	

Tabelle 19 zeigt drei Gruppen von Fragmenten, die von DEGENHARDT und MUELLER^[456] synthetisch kombiniert wurden. Die 4-Phenoxyanilin- und 4-Phenoxybenzylaminpartialstrukturen können gemäß dem *scaffold hopping* die Bindungseigenschaften des metabolisch oxidierbaren^[449,450,451,452] 4-Phenylsulfanylanilinelements imitieren. Der 4'-Aminosubstituent der Ausgangsverbindung **191** wurde zunächst nicht übernommen. In allen realisierten Verbindungen wurde die Sulfonamidgruppe durch eine Carbonsäureamidfunktion ersetzt.

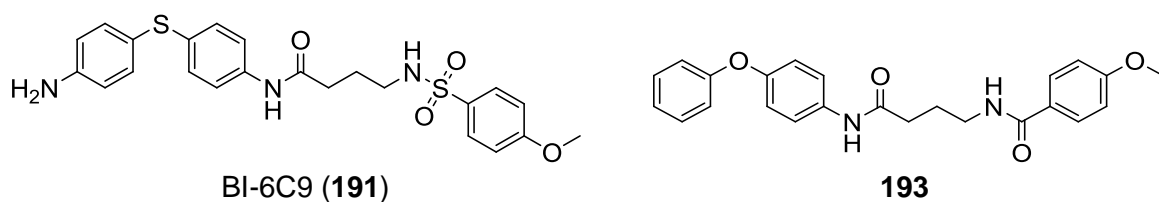


Abbildung 88: Chemische Strukturen des Bid-Inhibitors BI-6C9 (**191**) und dem strukturellen Analogon **193**.

Die so erhaltenen Verbindungen wurden in der Arbeitsgruppe Prof. Dr. C. CULMSEE^p in einem MTT-Assay an HT-22-Zellen getestet. Diese immortalisierten hippokampalen Neurone der Maus wurden zuvor mit zytotoxischen Konzentrationen von Glutamat behandelt (3 oder 4 mM). Der Bid-Inhibitor BI-6C9 (**191**) kann diese Zellen in einer Konzentration von 10 μ M vor dem induzierten Zelltod retten. Dagegen zeigen die aus dem *scaffold hopping* stammenden Verbindungen keinen zellprotektiven Effekt.

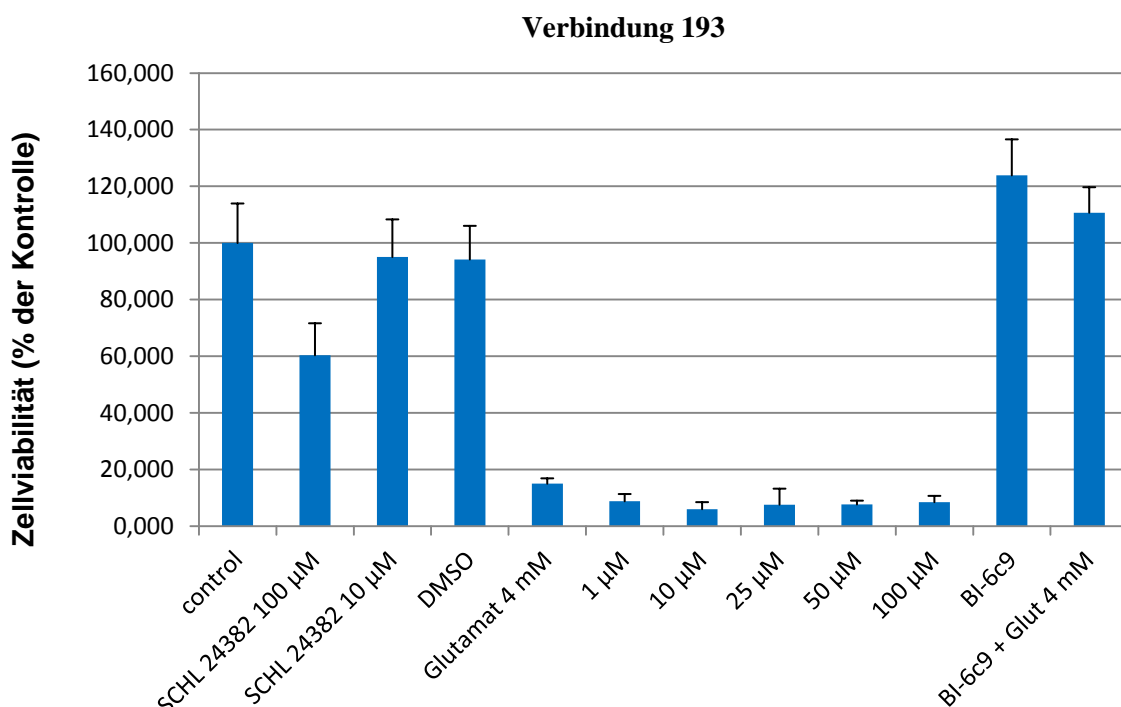


Abbildung 89: Zellviabilität von HT-22 Zellen nach Glutamatschädigung (4 mM) nach 16,5 h. control: Unbehandelte Kontrolle. 1 μ M – 100 μ M: Protektion durch Verbindung 193 (SCHL 24382). Assay und Diagramm: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.

Abbildung 89 zeigt die Zellviabilität von HT-22-Zellen im Vergleich zu einer unbehandelten Kontrolle (Im Diagramm: control). Die Viabilität von Zellen, die einer zytotoxischen Konzentration von Glutamat ausgesetzt wurden, ist deutlich reduziert (Im Diagramm: Glutamat 4 mM). Der Bid-Inhibitor BI-6C9 (**191**) wirkt in einer Konzentration von 10 μ M protektiv nach Glutamatexposition (Im Diagramm: BI-6C9 + Glut 4 mM). Das ursprünglich von

^p Philipps-Universität Marburg

DEGENHARDT^[456] synthetisierte BI-6C9-Analogon **193** (Abb. 88) zeigt jedoch, wie die anderen synthetisierten Derivate (nicht gezeigt), in keiner der getesteten Konzentration einen messbaren zytoprotektiven Effekt (Im Diagramm: 1-100 μ M). **193** unterscheidet sich strukturell von der Ausgangsverbindung BI-6C9 (**191**) nur durch die fehlende 4'-Aminofunktion sowie die Sulfanyl- und Sulfonamidgruppe. Da die Variation des Molekülgerüsts zu keinem Erfolg führte, wurden im Rahmen dieser Arbeit, ausgehend von BI-6C9 (**191**), kleinere, teils strukturell neuartige Verbindungen entwickelt.

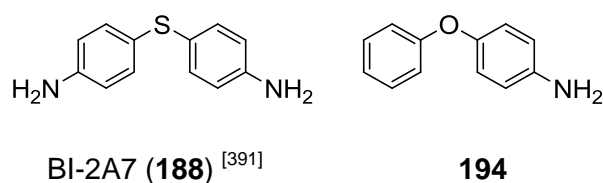
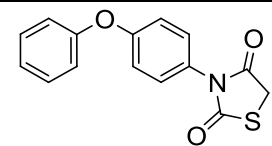
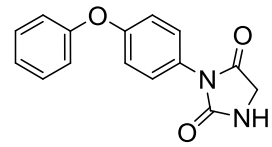
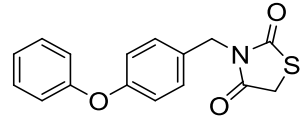
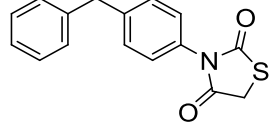
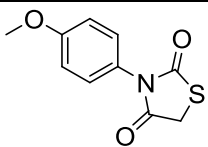
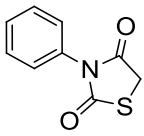


Abbildung 90: Chemische Struktur des Thioetherderivats **188** und des analoger Etherderivats **194**.

BECATTINI et al.^[391] zeigten, dass die tBid-induzierte Freisetzung proapoptotischer Faktoren aus isolierten Mitochondrien durch das Diarylthioetherderivat BI-2A7 (**188**) reduziert wird. In den Arbeiten von DEGENHARDT und MUELLER^[456] wurden für dieses Strukturelement durch das *scaffold hopping* N-Carbonsäureamidderivate von 4-Phenoxyanilin (**194**, Abb. 90) als bioisoster berechnet. Um diese Annahme zu validieren, wurden kleine Derivate von **194** synthetisiert und im MTT-Assay getestet.

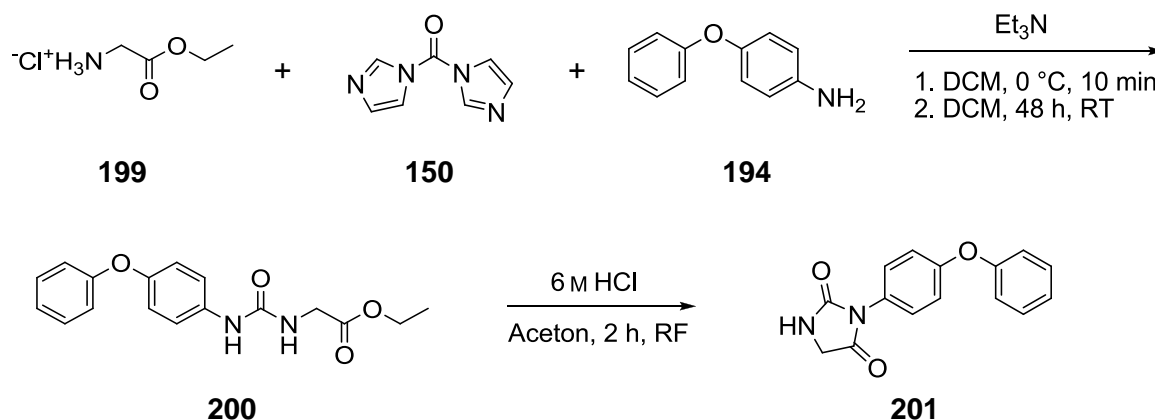
Tabelle 20: Zytoprotektiver Effekt nach Glutamatschädigung. 8000 Zellen pro Vertiefung. 4 mM Glutamat. ***: $p > 0,001$, **: $p > 0,01$, *: $p > 0,05$; Scheffé Test. Assay: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.

		Inhibitorkonzentration [μ M]					Zytotox. [μ M]
		1	10	25	50	100	
195		-	-	**	***	***	-
201		-	-	-	-	-	10, 100
196		-	-	-	-	***	-
197		-	-	*	***	***	-

		Inhibitorkonzentration [μM]					Zytotox. [μM]
		1	10	25	50	100	
198		-	-	***	***	***	-
142		-	-	***	***	***	-

Neben weiteren Verbindungen zeigte hierbei das Thiazolidin-2,4-dionderivat **195** eine zytoprotektive Wirkung (Tab. 20). Diese Verbindung wirkt in einer Konzentration von 25 μM protektiv auf HT-22 Zellen nach einer Behandlung mit 4 mM Glutamat. Im Folgenden wurden weitere Derivate von **195** synthetisiert, um für eine Wirkung essenzielle Strukturelemente dieser Verbindungsklasse zu identifizieren.

Zur Synthese des analogen Hydantoinderivats **201** wurden gemäß Schema 19 zunächst Glycinethylester Hydrochlorid (**199**), CDI (**150**) und 4-Phenoxyanilin (**194**) zum unsymmetrischen Harnstoffderivat **200** umgesetzt. Dieser wurde daraufhin unter Aktivierung des Esters mit 6 M HCl zu **201** cyclisiert. Das Hydantoinderivat **201** zeigt, im Gegensatz zum Thiazolidin-2,4-dionderivat **195**, auch in einer Konzentration von 100 μM keinen Effekt, wirkt aber bereits bei 10 μM zytotoxisch auf die HT-22 Zellen. Das Schwefelatom der zyklischen Thio-carbamstruktur ist daher für eine zytoprotektive Wirkung essenziell.



Schema 19: Syntheschema des 3-substituierten Hydantoinderivats **201**.

Auch das 3-(4-phenoxybenzyl)substituierte Derivat **196** zeigt eine deutlich reduzierte Wirkung und wirkt erst in einer Konzentration von 100 μM zytoprotektiv. Eine Methylenbrücke zwischen dem Heterozyklus und dem Aromaten wird also nicht toleriert. Folglich wurden weitere *N*-phenylsubstituierte Derivate synthetisiert, wobei die Diphenyletherpartialstruktur

sukzessive formal reduziert wurde. Sowohl das 3-(4-benzylphenyl)- (**197**), das 3-(4-methoxyphenyl)- (**198**) als auch das 3-phenylsubstituierte (**142**) Derivat zeigten eine ähnliche zytoprotektive Wirkung.

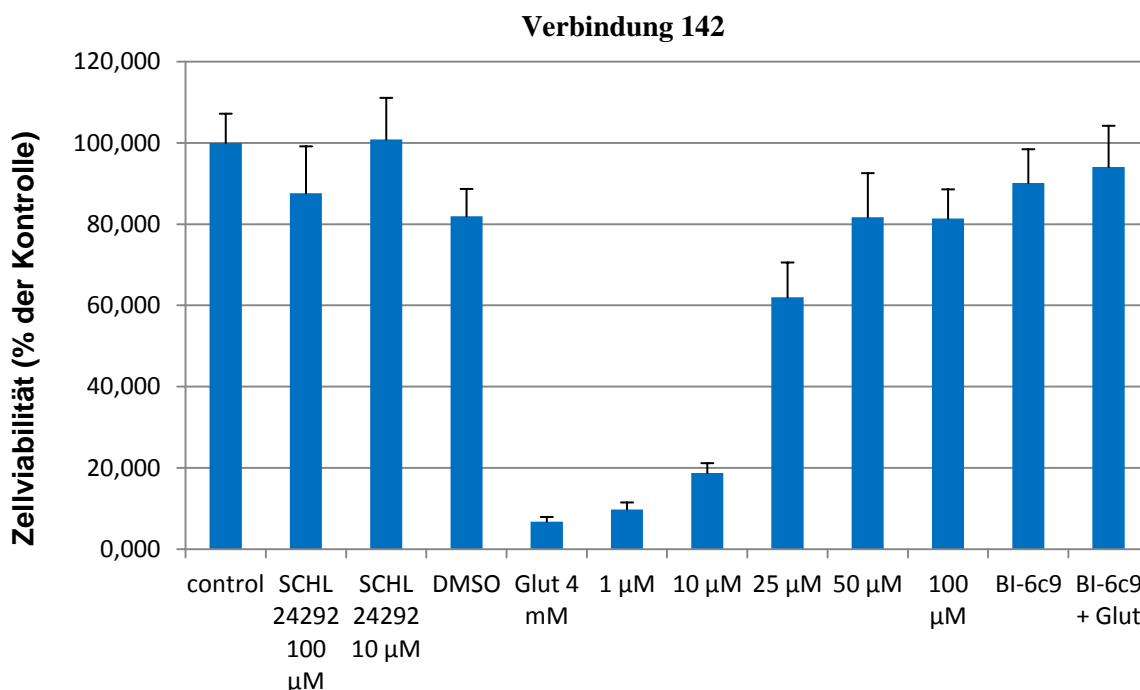


Abbildung 91: Zellviabilität von HT-22 Zellen nach Glutamatschädigung (4 mM) nach 16 h, 8000 Zellen /Vertiefung control: Unbehandelte Kontrolle. 1 μM – 100 μM: Protektion durch Verbindung 142 (SCHL 24292). Assay und Diagramm: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.

Nach der formalen Reduktion des Grundgerüsts von **195** um nicht-essenzielle Partialstrukturen weist **142** somit ein relatives Molekulargewicht von weniger als 200 g/mol auf. In einer Konzentration von 25 μM zeigt die Verbindung einen ausgeprägten zytoprotektiven Effekt (Abb. 91). Auf Grund von fehlender Zytotoxizität und dem fragmentartigen relativen Molekulargewicht stellt **142** eine vielversprechende Ausgangsverbindung für eine weitere strukturelle Optimierung dar.

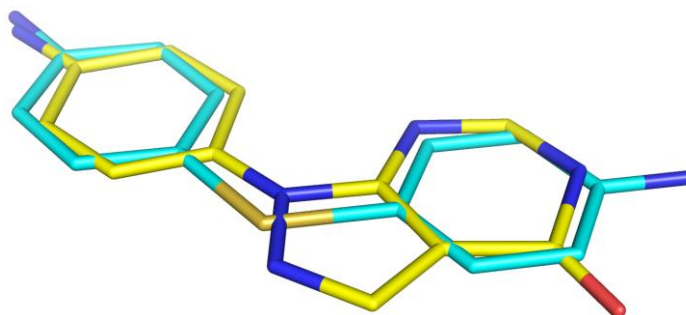


Abbildung 92: Überlagerung der Strukturen von BI-2A7 (188, cyan) und 202 (gelb) mit fconv.^[457] Visualisiert mit PyMOL.^[166]

Um weitere strukturell neuartige und zytoprotektive Derivate von BI-2A7 (**188**) zu entwickeln, wurde von S. GLINCA mit dem Programm MOE^[281] ein ligandenbasiertes Pharmakophormodell entworfen. Hierzu wurden funktionellen Gruppen einer energetisch minimierten Konformation des Bid-Inhibitors BI-6C9 (**191**) die entsprechenden potenziellen Bindungseigenschaften zugeordnet. Im Folgenden wurde die Zinc-Datenbank^[458] nach Liganden durchsucht, welche in ihren Bindungseigenschaften die Anforderungen des dreidimensionalen Pharmakophormodells erfüllen.

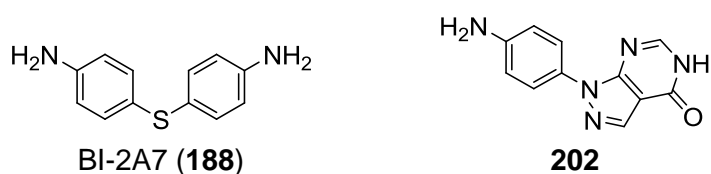
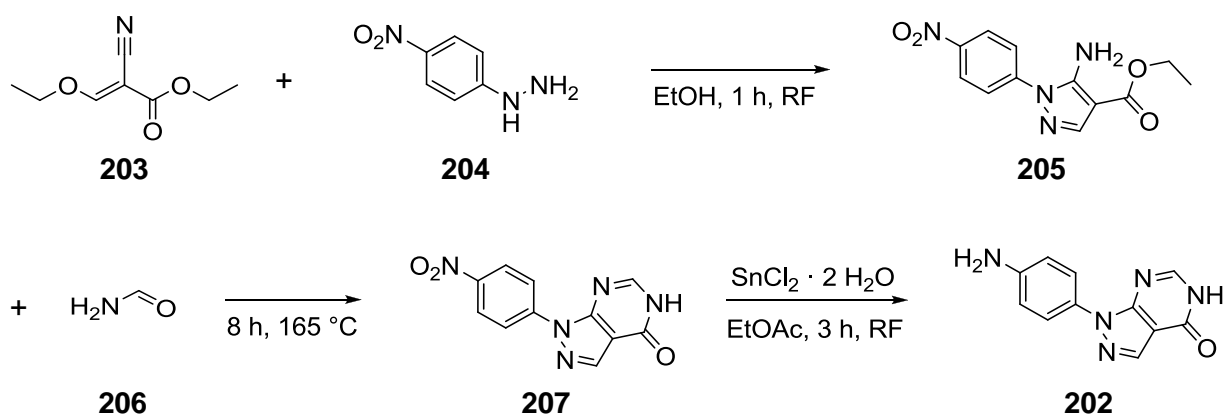


Abbildung 93: Chemische Strukturen des Sulfanylderivats BI-2A7 (**188**) und des Analogons **202**.

Ein unter den Ergebnissen auffallend häufig auftretendes Strukturelement stellte das 1-arylsubstituierte Pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-4(5*H*)-onderivat **202** dar. Dessen aromatischer 1-Substituent und die Pyrimidin-4(5*H*)-onpartialstruktur stehen im optimalen Winkel zueinander, um die Diarylthioetherpartialstruktur der von BECATTINI et al.^[391] entwickelten Verbindungen zu imitieren (Abb. 92). Zusätzlich ist **202**, im Vergleich zu BI-2A7 (**188**), in zunehmendem Maße rigidisiert, was einen entropischen Gewinn bei der Bindung bedeuten kann^[1] (Abb. 93). Die exozyklische Aminogruppe sowie die zyklische Amidfunktion von **202** erfüllen ebenfalls die Anforderungen des Pharmakophors an Wasserstoffbrückendonoren/-akzeptoren an diesen Positionen.

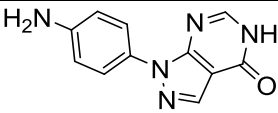


Schema 20: Syntheschema des Purinanalogons **202**.

Zur Synthese von **202** wurde zunächst das 5-aminosubstituierte Pyrazolderivat **205** aus 2-Cyano-3-ethoxyacrylsäureethylester (**203**) und (4-Nitrophenyl)hydrazin (**204**) dargestellt. Das Acrylsäurederivat **203** ist durch die Acylfunktion und den 2-Carbonitrilsubstituenten

„doppelt aktiviert“. Gleichzeitig zeigt **204** als Hydrazinderivat bedingt durch den α -Effekt eine erhöhte Nukleophilie. Beide Eigenschaften begünstigen eine Aza-Michael-Addition. **207** wurde durch Zyklisieren von **205** mit Formamid (**206**) erhalten. Die Reduktion zum aromatischen Aminoderivat **202** gelang mit Zinn(II)-chlorid Dihydrat (Schema 20). Im MTT-Assay zeigt **202** in einer Konzentration von 25 μM einen zytoprotektiven Effekt, jedoch keine Zytotoxizität gegenüber HT-22 Zellen (Tab. 21, Abb. 94). Damit eignet sich auch **202** als Ausgangsverbindung für eine weitere strukturelle Optimierung.

Tabelle 21: Zytoprotektiver Effekt nach Glutamatschädigung. 8000 Zellen pro Vertiefung. 4 mM Glutamat. ***: $p > 0,001$; Scheffé Test. Assay: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.

		Inhibitorkonzentration [μM]					Zytotox [μM]
		1	10	25	50	100	
202		-	-	***	***	-***	-

Im Folgenden wurden kleine, offenkettige Carbonsäureamidderivate von 4-Phenoxyanilin (**194**) synthetisiert. Durch eine sukzessive Verlängerung der Alkylkette um eine Methyleinheit und formale Inkorporation eines Stickstoffatoms sollte die optimale Distanz zu einem Wasserstoffbrückendonator oder Akzeptor ermittelt werden. Die Testergebnisse offenkettiger Carbonsäureamidderivate von 4-Phenoxyanilin (**194**) sind in Tabelle 22 zusammengefasst.

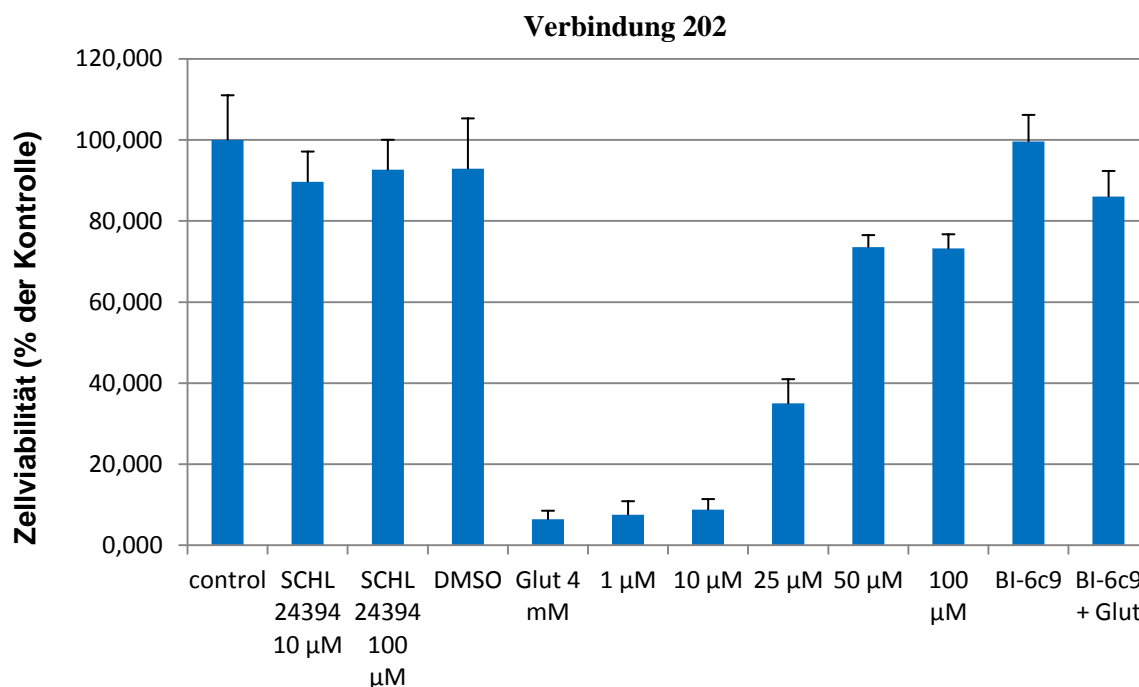
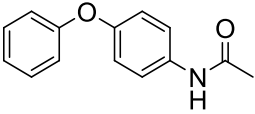
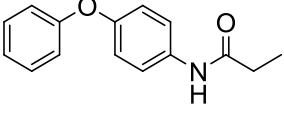
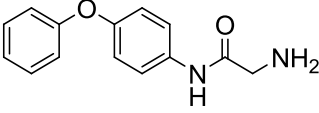
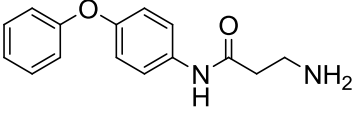
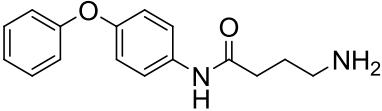


Abbildung 94: Zellviabilität von HT-22 Zellen nach Glutamatschädigung (4 mM) nach 16 h, 8000 Zellen /Vertiefung control: Unbehandelte Kontrolle. 1 μM - 100 μM : Protektion durch Verbindung 202 (SCHL 24394). Assay und Diagramm: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.

Tabelle 22: Zytoprotektiver Effekt nach Glutamatschädigung. 8000 Zellen pro Vertiefung. 4 mM Glutamat. *: $p > 0,001$; Scheffé Test. Assay: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.**

		Inhibitorkonzentration [μM]					Zytotox. [μM]
		1	10	25	50	100	
208		-	-	-	-	-	-
209		-	-	***	***	***	-
210		-	-	-	***	***	100
211		-	-	-	-	***	100
212		-	-	-	-	-	-

Auffällig ist der Aktivitätsgewinn des *N*-Propionylderivats **209** im Vergleich zum *N*-Acetylderivat **208**. Beide Derivate unterscheiden sich formal ausschließlich in einer Methylen-
 einheit. Offensichtlich kann nur **209** essenzielle hydrophobe Wechselwirkungen mit der Ziel-
 struktur ausüben. Diese Verbindung kann HT-22 Zellen in einer Konzentration von 25 μM
 moderat aber signifikant ($p > 0,001$; Scheffé Test) vor der glutamatinduzierten Zytotoxizität
 schützen ohne dabei zytotoxisch zu wirken (Abb. 95).

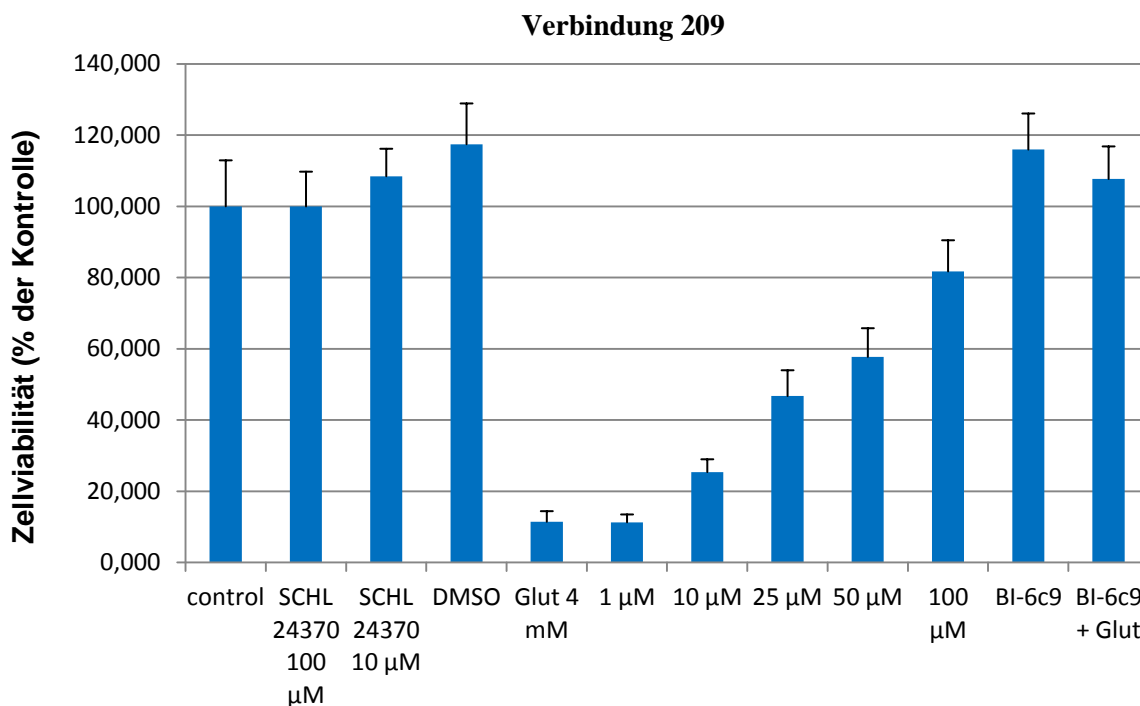


Abbildung 95: Zellviabilität von HT-22 Zellen nach Glutamatschädigung (4 mM) nach 16 h, 8000 Zellen /Vertiefung control: Unbehandelte Kontrolle. 1 µM – 100 µM: Protektion durch Verbindung 209 (SCHL 24370). Assay und Diagramm: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.

Um Bereiche der Zielstruktur zu adressieren, die Wechselwirkungen mit der polaren Sulfonamidgruppe von BI-6C9 (**191**) ausüben, wurden das 2-Aminoacetamid- (**210**), das 3-Aminopropanamid- (**211**) und das 4-Aminobutanamidderivat **212** synthetisiert. **212** zeigt jedoch in keiner getesteten Konzentration eine protektive Wirkung. Im Gegensatz dazu wirkt das kurz-kettige 2-Aminoacetamidderivat **210** in einer Konzentration von 50 µM zytoprotektiv.

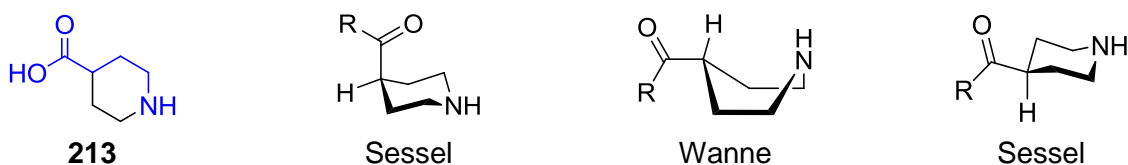


Abbildung 96: Von links: Chemische Struktur der Isonipeticotinsäure (4-Piperidincarbonsäure). In blau ist die γ -Aminobuttersäurepartialstruktur markiert. Konformationen des Piperidinrings in Verbindung 214.

Lange, gesättigte Alkylketten wie in Verbindung **212** besitzen sehr viele konformative Freiheitsgrade, die sie bei der Bindung an eine Zielstruktur verlieren würden. Derartige Verbindungen sind daher aus entropischer Sicht schlechte Inhibitoren.^[1] Falls ein hoher entropischer Verlust der Grund für die niedrige Aktivität des langkettigen Alkylaminoderivats **212** ist, könnten starre Systeme eine Aktivitätssteigerung zeigen.

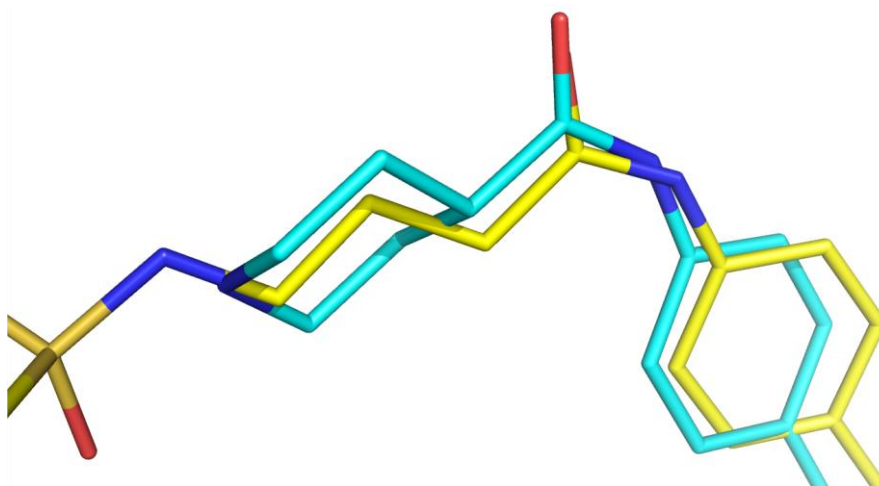


Abbildung 97: Überlagerung der energetischen Minima von BI-6C9 (191, gelb) und dem Piperidin-4-carbonsäurederivat 214 (cyan) mit fconv.^[457] Visualisiert mit PyMOL.^[166]

Tabelle 23: Zytoprotektiver Effekt nach Glutamatschädigung. 8000 Zellen pro Vertiefung. 4 mM Glutamat. ***: $p > 0,001$; Scheffé Test. Assay: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.

		Inhibitorkonzentration [μM]					Zytotox. [μM]
		1	10	25	50	100	
212		-	-	-	-	-	-
214		-	***	***	***	***	100

Als bioisosteres Ringsystem mit einem Wasserstoffbrückendonator/-akzeptor wurde die 4-Piperidincarbonsäure (**213**, Abb. 96) ausgewählt. Diese Verbindung (**213**) besitzt formal ebenfalls die γ -Aminobuttersäurepartialstruktur aus BI-6C9 (**191**), BI-11A7 (**192**) und **212** (Abb. 97), ist jedoch konformativ deutlich eingeschränkter: Der Piperidinring kann nur Zustände zwischen zwei Sesselkonformationen einnehmen (Abb. 96). Bindet der Ligand in einer dieser Konformationen an eine Zielstruktur, verliert er erheblich weniger theoretische Freiheitsgrade als das γ -Aminobuttersäurederivat **212**.^[1]

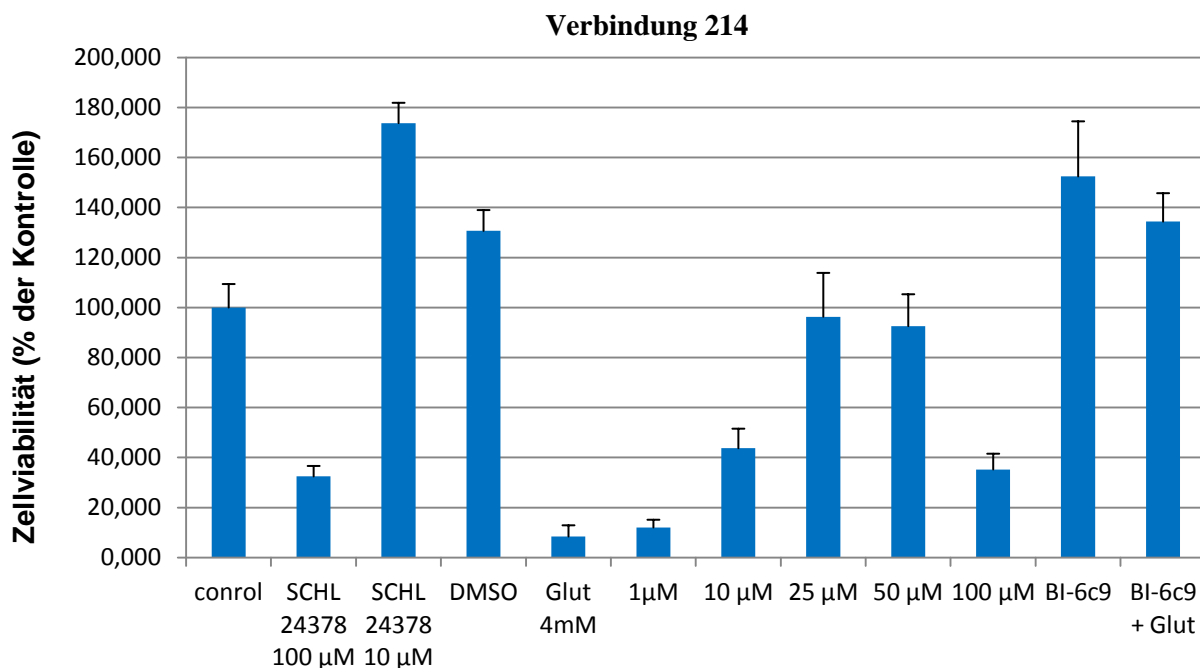
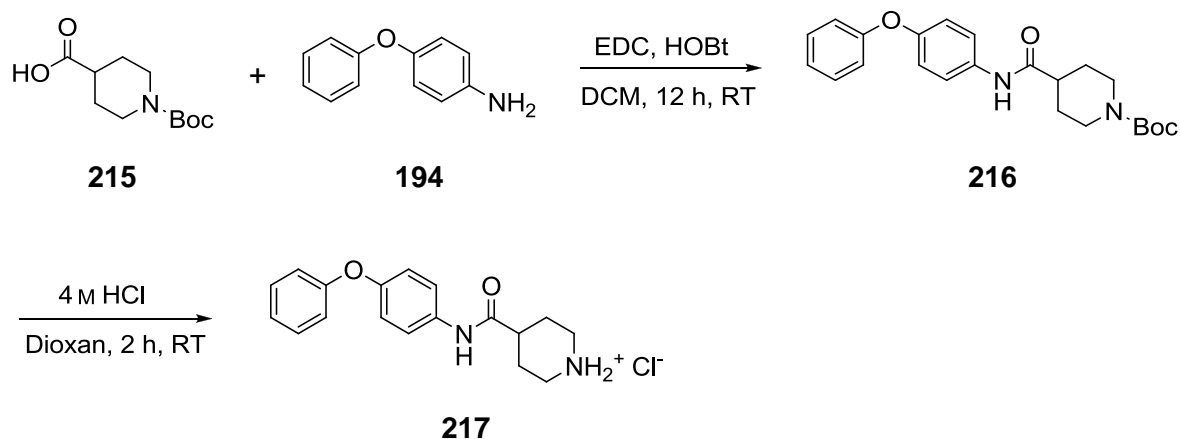


Abbildung 98: Zellviabilität von HT-22 Zellen nach Glutamatschädigung (4 mM) nach 16 h, 8000 Zellen /Vertiefung control: Unbehandelte Kontrolle. 1 μM – 100 μM: Protection durch Verbindung 214 (SCHL 24378). Assay und Diagramm: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.

Tatsächlich zeigt das 4-Piperidincarbonsäurederivat **214** von den bisher synthetisierten Verbindungen die deutlichste zytoprotektive Wirkung im MTT-Assay. Bereits In einer Konzentration von 10 μM schützt **214** HT-22 Zellen signifikant ($p > 0,001$; Scheffé Test) vor glutamatinduzierter Zytotoxizität (Tab. 23, Abb. 98).

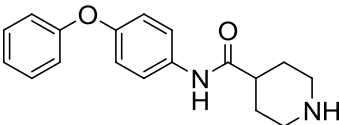
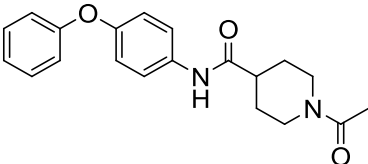
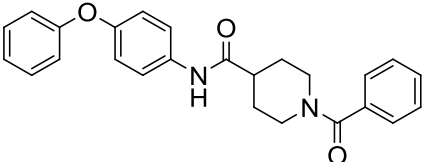
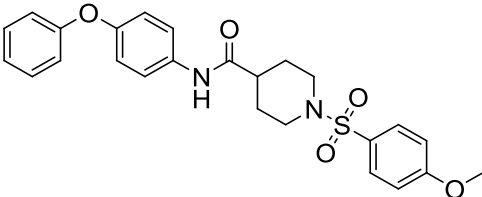


Schema 21: Syntheschema des Piperidin-4-carbonsäurederivats **217**.

Zur Synthese von **214** wurde gemäß Schema 21 das *N*-Boc-geschützte Derivat von **214** aus der *N*-Boc-Isonipeticotinsäure (**215**) und 4-Phenoxyanilin (**194**) erhalten. Die Entschützung erfolgte mit 4 M HCl in Dioxan. Die freie Base wurde mit Diethylether aus einer Lösung von **217** und 1 M NaOH extrahiert.

Im Versuch, die potenziellen Wechselwirkungen der 4-Methoxyphenylsulfonylpartialstruktur des Bid-Inhibitors BI-6C9 (**191**) zu imitieren, wurden Acyl- und Sulfonylderivate von **214** synthetisiert und getestet (Tab. 24). Wider Erwarten zeigte weder das *N*-acetyl- (**218**), das *N*-benzoyl- (**219**) noch das *N*-(4-methoxysulfonyl)substituierte (**220**) Derivat von **214** einen zytoprotektiven Effekt im MTT-Assay.

Tabelle 24: Zytoprotektiver Effekt nach Glutamatschädigung. 8000 Zellen pro Vertiefung. 4 mM Glutamat. *: $p > 0,001$ Scheffé Test. Assay: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.**

		Inhibitorkonzentration [μ M]					Zytotox
		1	10	25	50	100	
214		-	***	***	***	***	100
218		-	-	-	-	-	100
219		-	-	-	***	***	-
220		-	-	-	-	-	-

Verschiedene Gründe für die ausbleibende Wirksamkeit der Verbindungen **218-220** sind denkbar: *N*-substituierte Derivate könnten sterisch zu anspruchsvoll sein, um in eine Bindetasche der Zielstruktur zu gelangen. Außerdem liegen *N*-unsubstituierte Piperidinderivate wie **214** auf Grund ihres pK_B -Wertes von etwa drei bei physiologischem pH-Wert fast ausschließlich als Ammoniumverbindung vor. *N*-acylierte und -sulfonylierte Derivate sind unter diesen Bedingungen dagegen ungeladen und weisen daher eine deutlich veränderte Polarität auf. Einen dritten Grund für die Unwirksamkeit *N*-acylierter Derivate könnten veränderte konformative Eigenschaften des Piperidinrings darstellen. Abbildung 99 zeigt Beispiele *N*-alkyl- und *N*-acylsubstituierter Piperidinderivate aus gelösten Ko-Kristallstrukturen mit unterschiedlichen Zielstrukturen.

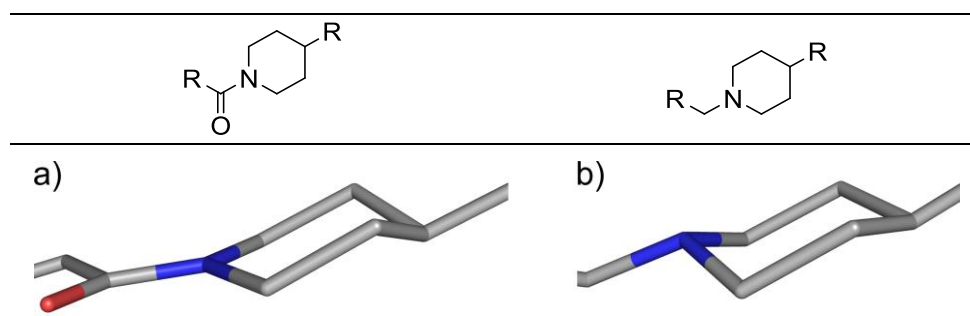
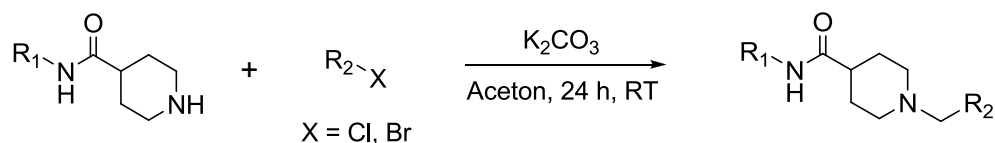


Abbildung 99: a) PDB 3O8G^[459] b) PDB 1EVE.^[460] Visualisiert mit PyMOL.^[166]

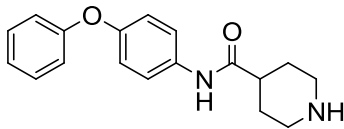
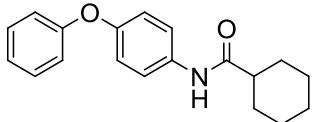
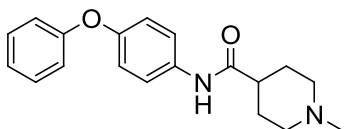
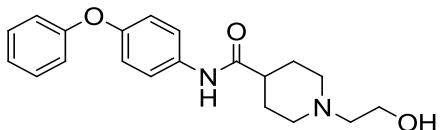
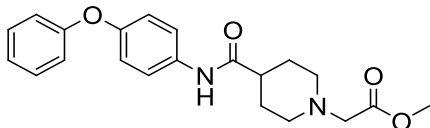
In *N*-alkylsubstituierten Piperidinderivaten weist das Stickstoffatom die Bindungsgeometrie eines Tetraeders auf. Verglichen mit dem *N*-unsubstituierten Heterozyklus verändern sich in diesem Fall die Bindungswinkel im Ring nur unwesentlich. In den entsprechenden *N*-acylsubstituierten Derivaten ist die Carbonsäureamidpartialstruktur jedoch planar. Hierdurch ändert sich entweder die räumliche Orientierung des *N*-Substituenten oder die Bindungsgeometrie der beiden α -ständigen Kohlenstoffatome des Heterozyklus wird zunehmend planar (Abb. 99a). In jedem Fall kann dies zu einem unterschiedlichen Bindungsverhalten und entsprechend anderer Wirksamkeit führen.



Schema 22: Schema zur Synthese von *N*-Alkylpiperidin-4-carbonsäurederivaten.

Um diese drei Theorien zu evaluieren, wurden zum einen das Cyclohexancarbonsäurederivat **221** sowie das *N*-methyl- (**222**), *N*-(2-hydroxyethyl)- (**223**) und *N*-(2-methoxy-2-oxoethyl)substituierte (**224**) Piperidin-4-carbonsäurederivat synthetisiert und im MTT-Assay getestet (Tab. 25). Die Synthese *N*-alkylsubstituierter Piperidin-4-carbonsäurederivate erfolgte nach Schema 22 durch nukleophile Substitution eines Alkylhalogenids mit der deprotonierten Ammoniumverbindung **217**.

Tabelle 25: Zytoprotektiver Effekt nach Glutamatschädigung. 12000 Zellen pro Vertiefung. 3 mM Glutamat. ***: $p > 0,001$; *: $p > 0,05$; Scheffé Test. Assay: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.

		Inhibitorkonzentration [μM]					Zytotox [μM]
		1	10	25	50	100	
214		-	***	***	***	***	100
221		-	-	-	***	***	-
222		-	***	***	***	***	100
223		***	***	***	***	***	100
224		***	-	-	*	*	-

Das Cyclohexanderivat **221** zeigt in einer Konzentration von 50 mM einen zytoprotektiven Effekt und ist damit weniger effektiv als das Piperidinderivat **214** (10 μM). Hieraus wird zum einen ersichtlich, dass das Stickstoffatom des Heterozyklus mit der Zielstruktur interagiert und einen wesentlichen Anteil an der Wirksamkeit von **214** hat. Zum anderen zeigen diese Ergebnisse, dass ein fehlendes basisches Stickstoffatom im Ring nicht zwangsläufig zu einem vollständigen Wirkungsverlust der Verbindung führt. Das *N*-(2-hydroxyethyl)substituierte Piperidinderivat **223** ist im MTT-Assay bereits in einer Konzentration von 1 μM wirksam und übertrifft diesbezüglich das unsubstituierte Derivat **214** (10 μM). Offensichtlich werden *N*-Alkylsubstituenten, im Gegensatz zu *N*-Acylsubstituenten, an dieser Position toleriert und können sogar zu einer Wirkungssteigerung führen.

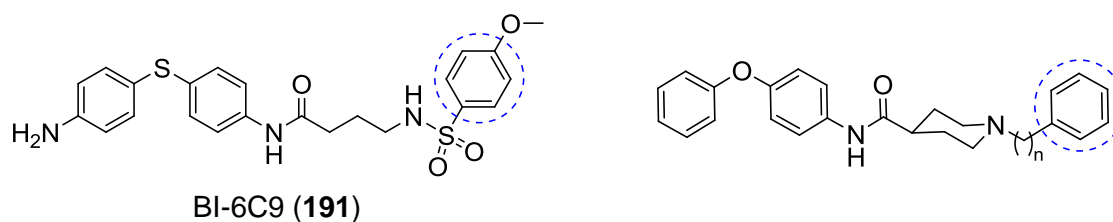
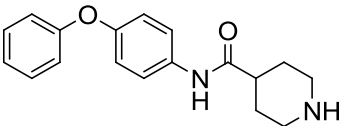
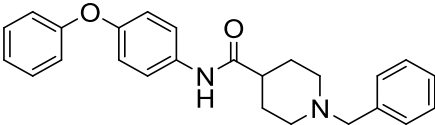
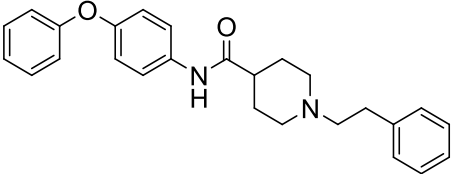
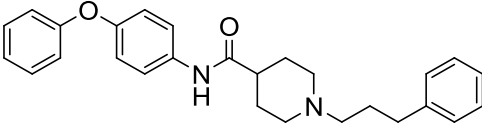


Abbildung 100: Aromatische Partialstrukturen in BI-6C9 (**191**) analogen Piperidin-4-carbonsäurederivaten.

Die γ -Aminobuttersäurepartialstruktur des Bid-Inhibitors BI-6C9 (**191**) ist durch ein Benzen-sulfonsäurederivat *N*-substituiert (Abb. 100). Um zu testen, ob analoge *N*-(phenylalkyl)substituierte Piperidinderivate eine Wirkungssteigerung im MTT-Assay zeigen, wurden das *N*-benzyl- (**225**), *N*-(2-Phenylethyl)- (**226**) und *N*-(3-Phenylpropyl)- (**227**) substituierte Piperidin-4-carbonsäurederivat synthetisiert.

Tabelle 26: Zytoprotektiver Effekt nach Glutamatschädigung. 8000 Zellen pro Vertiefung. 3 mM Glutamat. *: $p > 0,001$; **: $p > 0,01$; Scheffé Test. Assay: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.**

		Inhibitorkonzentration [μ M]					Zytotox [μ M]
		1	10	25	50	100	
214		-	-	***	***	***	100
225		-	-	-	-	-	-
226		-	-	-	-	-	100
227		-	***	**	-	-	10, 100

Die in diesem Versuch von OPPERMANN im MTT-Assay verwendeten HT-Zellen zeigen eine höhere Sensitivität gegenüber glutamatinduzierter Zytotoxizität. Aus diesem Grund zeigt die in vorherigen Versuchen in einer Konzentration von 10 μ M wirksame Verbindung **214** hier erst bei 25 μ M einen messbaren zytoprotektiven Effekt. Für das *N*-benzyl- (**225**) und das *N*-(2-phenylethyl)substituierte Derivat zeigen die Messungen keinen zytoprotektiven Effekt. In einer Konzentration von 10 μ M erhöht jedoch das *N*-(3-phenylpropyl)substituierte Derivat (**227**) signifikant ($p > 0,001$; Scheffé Test) die Zellviabilität der HT-22 Zellen relativ zur unbehandelten Kontrolle. Gleichzeitig wirkt **227** aber bereits in der Konzentration von 10 μ M ausgeprägt zytotoxisch (Tab. 26, Abb. 101).

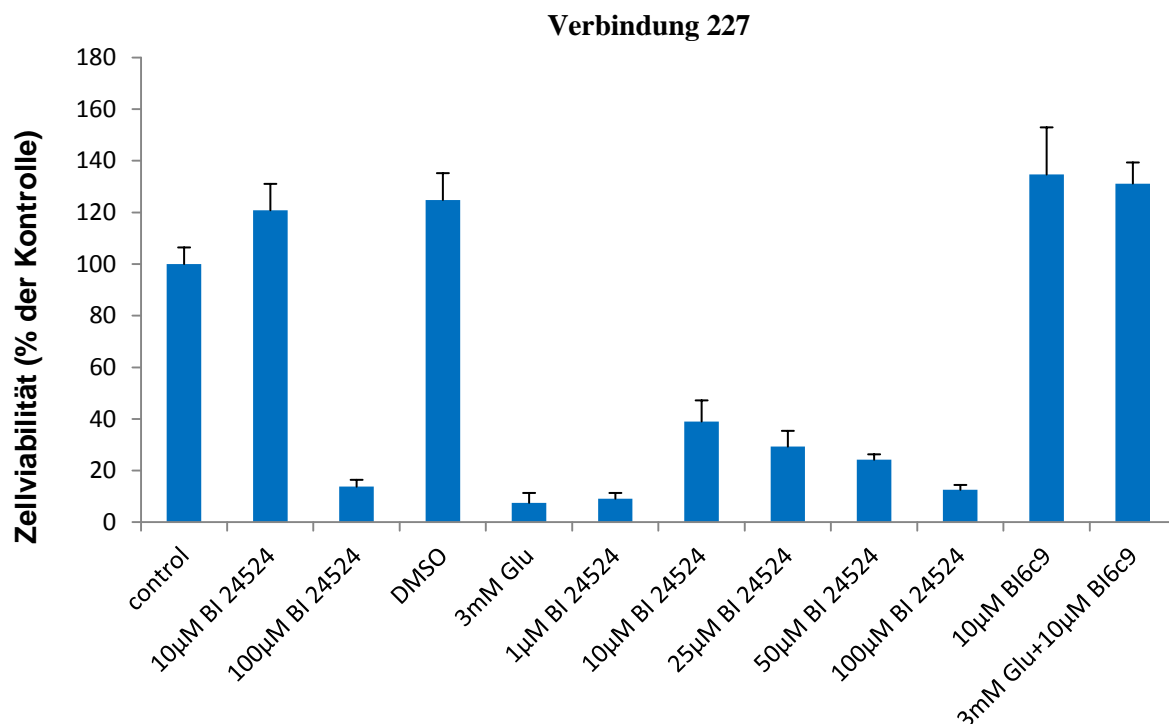


Abbildung 101: Zellviabilität von HT-22 Zellen nach Glutamatschädigung (3 mM) nach 12 h, 8000 Zellen /Vertiefung control: Unbehandelte Kontrolle. 1 μM – 100 μM: Protektion durch Verbindung 227 (BI 24524). Assay und Diagramm: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.

In einem Versuch, die Hydroxyethyl- und die *N*-(3-Phenylpropyl)partialstruktur der beiden bisher wirksamsten Derivate **223** und **227** zu kombinieren, wurden das *N*-propiophenon- (**228**) und *N*-(2-phenoxyethyl)substituierte (**229**) Piperidinderivat synthetisiert und getestet. Zusätzlich wurde eruiert, ob sich durch eine weitere Alkoholfunktion am *N*-Alkylsubstituenten polare Wechselwirkungen erzielen lassen (Abb. 102).

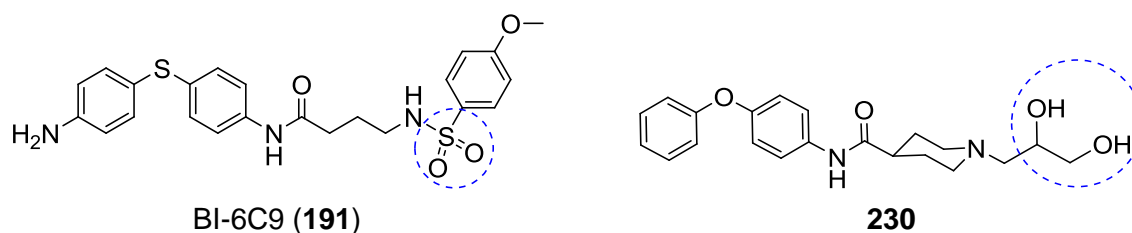


Abbildung 102: Aromatische Partialstrukturen in BI-6C9 (191) analogen Piperidin-4-carbonsäurederivaten.

Die drei Verbindungen wurden im MTT-Assay mit 12.000 statt, wie zuvor, 8.000 Zellen pro Vertiefung getestet. In diesem Fall sind die Zellen weniger sensitiv gegen die glutamatinduzierter Zytotoxizität und das Testergebnis fällt positiver aus. Entsprechend wirkt das als Referenz verwendete unsubstituierte Piperidinderivat (in diesem Assay als Ammoniumhydrochlorid **217**) in einer Konzentration von 10 μM zytoprotektiv (Tab. 27).

Das *N*-Propiophenonderivat **228** zeigt bereits in einer Konzentration von 1 μM einen signifikanten ($p > 0,001$; Scheffé Test) protektiven Effekt. Das Phenoxyethylderivat (**229**, ab 50 μM) ist dagegen geringer wirksam als die Ausgangsverbindung **217**. Das Dihydroxypropyldrivat **230** entspricht in seiner Wirksamkeit dem unsubstituierten Derivat **217** (ab 10 μM).

Tabelle 27: Zytoprotektiver Effekt nach Glutamatschädigung. 12000 Zellen pro Vertiefung. 3 mM Glutamat. *: $p > 0,001$; Scheffé Test. Assay: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.**

		Inhibitorkonzentration [μM]					Zytotox [μM]
		1	10	25	50	100	
217		-	***	***	***	***	100
228		***	***	-	-	-	100
229		-	-	-	***	***	100
230		-	***	***	***	***	100

Das 4-Phenoxybenzoesäurederivat **231** weist statt der Piperidin-4-carbonsäurepartialstruktur eine 4-Aminopiperidinpartialstruktur auf, deren primäre Aminofunktion durch ein Benzoesäurederivat acyliert ist. Obwohl sich **231** von der Ausgangsverbindung **217** in der räumlichen Anordnung der Amidfunktion unterscheidet, zeigen beide Derivate die gleiche Wirksamkeit im MTT-Assay (ab 10 μM , Tab. 28). Es ist somit unwahrscheinlich, dass die Amidfunktionen an dieser Stelle die molekulare Zielstruktur optimal adressieren.

Tabelle 28: Zytoprotektiver Effekt nach Glutamatschädigung. 12000 Zellen pro Vertiefung. 3 mM Glutamat. *: $p > 0,001$; Scheffé Test. Assay: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.**

		Inhibitorkonzentration [μM]					Zytotox [μM]
		1	10	25	50	100	
231		-	***	***	***	***	100
217		-	***	***	***	***	100

Im Folgenden wurde eruiert ob sich durch eine weitere Rigidisierung des Moleküls die zytoprotektive Wirkung der Piperidin-4-carbonsäurederivate steigern lässt. Hierzu wurde der Piperidinzyklus formal gegen einen Piperazinring ausgetauscht. Im resultierenden *N*-Carbamoylpiperazinderivats **238** ist der Heterozyklus, im Gegensatz zu Piperidin- und Cyclohexancarbonsäurederivaten wie **217** und **237**, bei RT nicht frei drehbar. Die Verbindung ist durch die Harnstoffpartialstruktur rigidisiert und die Bindungsgeometrie ist zunehmend planar (Abb. 103).

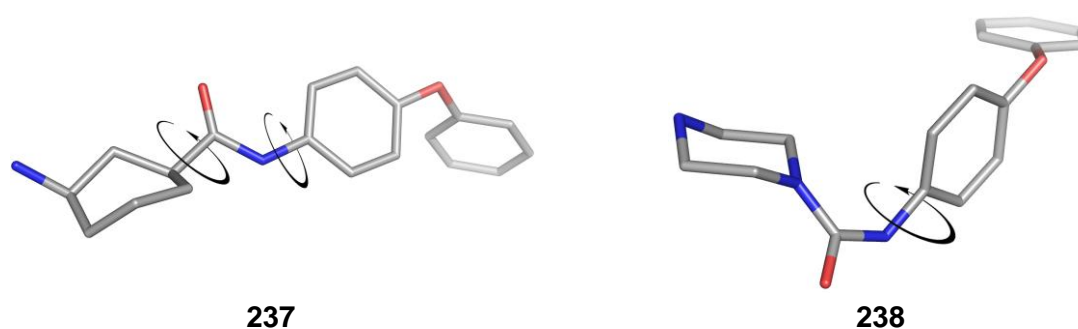
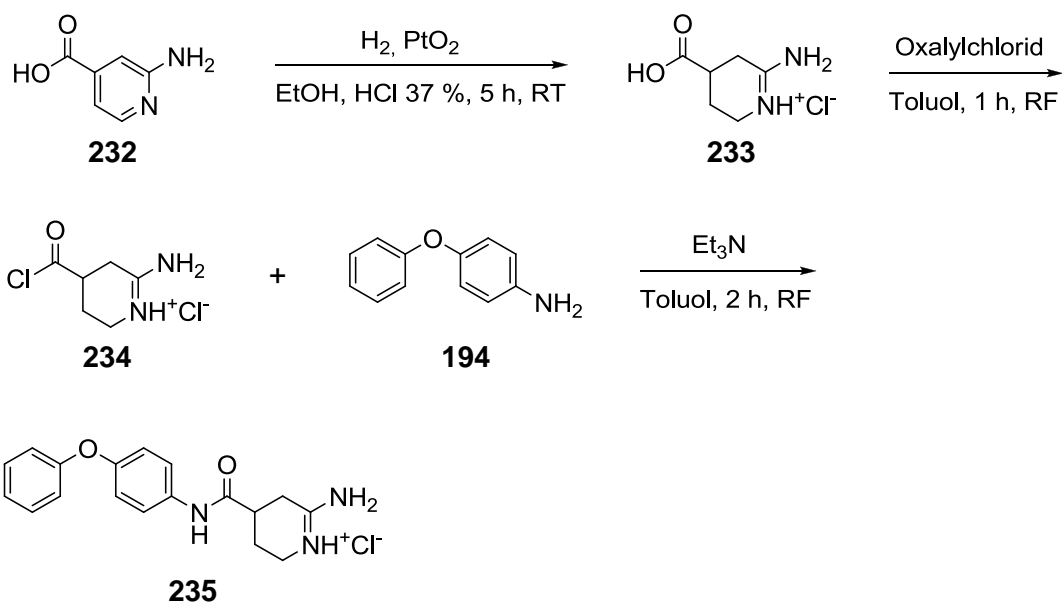


Abbildung 103: Dreidimensionale chemische Strukturen des (1*R*,3*S*)-1-Aminocyclohexan-3-carbonsäurederivats **237** und des *N*-Carbamoylpiperazinderivats **238**. Die energetisch minimierten Konformationen wurde von S. GLINCA mit MOE^[281] erstellt. Visualisiert mit PyMOL.^[166]

Um zu testen, ob sich durch eine formale Veränderung der Position der Aminogruppe des Piperidinrings die zytoprotektive Wirksamkeit steigern lässt, wurden das 3-Piperidincarbonsäure- (**236**), das (1*R*,3*S*)-1-Aminocyclohexan-3-carbonsäure (**237**) sowie das zyklischen Amidinderivat **235** synthetisiert.

Zur Synthese des zyklischen Amidinderivats **235** wurde zunächst nach DUNBAR et al.^[461] 2-Aminoisonikotinsäure mit Platin(IV)-oxid über Wasserstoffgas in saurer Lösung partiell hydriert. Die so erhaltene zyklische Amidinverbindung konnte als ihr Hydrochlorid isoliert und als solches zum Säurechlorid umgesetzt werden. Dieses wurde ebenfalls als sein Säurechlorid isoliert und im Folgenden mit 4-Phenoxyanilin zum gewünschten Produkt **235** umgesetzt.



Schema 23: Syntheschema des Purinderivats 202.

Die Amidinfunktion der Verbindung **235** weist zum einen eine höhere Basizität auf als etwa das sekundäre Amin des Piperidinzyklus aus **217** und **236**. Wie bereits beschrieben, zeigten bisher getestete Derivate eine Wirksamkeit abhängig von der Basizität des Stickstoffatoms im Ring. In diesem Sinn wäre eine Wirkungssteigerung für **235** denkbar. Zum anderen ist die Bindungsgeometrie im Bereich der Amidinpartialstruktur planar und der weiter rigidisierte Heterozyklus kann weder die Sessel- noch die Wannenkonformation einnehmen (Abb. 104).

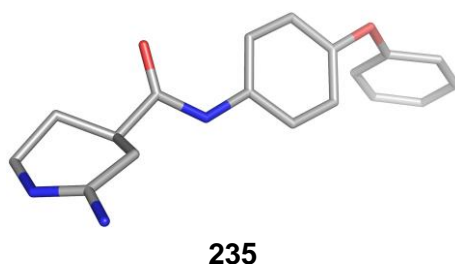


Abbildung 104: Dreidimensionale chemische Struktur des Amidinderivats **235**. Die energetisch minimierte Konformation wurde von S. GLINCA mit MOE^[281] erstellt. Visualisiert mit PyMOL.^[166]

Unerwartet wirken sowohl das 3-Piperidincarbonsäure- (**236**), das 1-Aminocyclohexan-3-carbonsäure- (**237**) als auch das Amidinderivat **235** im gleichen Konzentrationsbereich (10 μM) zytoprotektiv im MTT-Assay (Tab. 29). Im Vergleich hierzu zeigt das unsubstituierte Cyclohexancarbonsäurederivat **221** eine entsprechende Wirkung erst in einer Konzentration von 50 μM . Das *N*-Carbamoylpiperazinderivat **238** zeigt erst in einer Konzentration von 25 μM eine zytoprotektive Wirkung.

Tabelle 29: Zytoprotektiver Effekt nach Glutamatschädigung. 12000 Zellen pro Vertiefung, 3 mM Glutamat. *: p >0,001; Scheffé Test. Assay: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.**

		Inhibitorkonzentration [μM]					Zytotox [μM]
		1	10	25	50	100	
217		-	***	***	***	***	100
236		-	***	***	***	***	100
237		-	***	***	***	***	100
235		-	***	***	***	***	-
238		-	-	***	***	***	-
221		-	-	-	***	***	-

Diese Ergebnisse bekräftigen die Feststellung, dass das im Ring inkorporierte Stickstoffatom eine entscheidende Wechselwirkung mit der Zielstruktur eingeht. Gleichzeitig wird durch das Messergebnis des Amidinderivats **235** deutlich, dass eine konformative Einschränkung des Heterozyklus nicht zwangsläufig zum Wirkungsverlust führt: Sowohl **235** als auch das Piperidinderivat **217** können offenbar, trotz unterschiedlicher Konformation des Heterozyklus (Abb. 104, 105), die entsprechende Zielstruktur mit der Amino- bzw. Amidinfunktion adressieren.

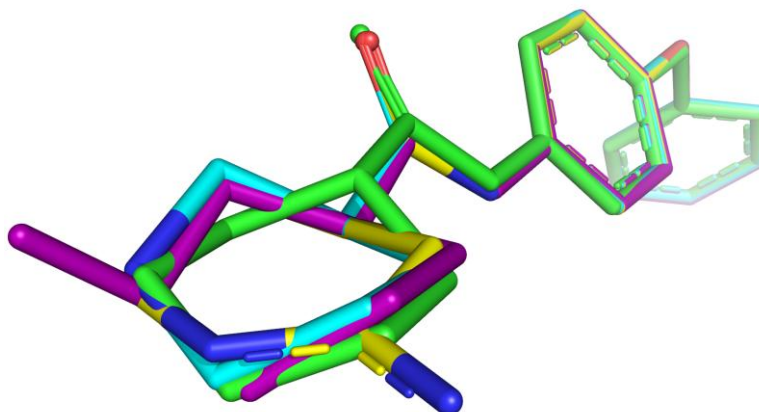
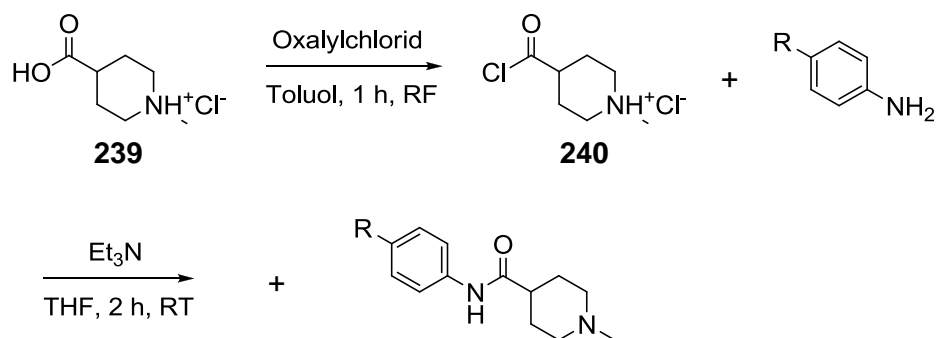


Abbildung 105: Überlagerung der Verbindungen 217 (grün), 235 (gelb), 236 (cyan) und 237 (pink) mit MOE^[281] von S. GLINCA. Visualisiert mit PyMOL.^[166]

In einem weiteren Optimierungsschritt wurde die Diaryletherpartialstruktur der Piperidin-4-Carbonsäurederivate variiert. Hierzu wurden *N*-Methylpiperidin-4-carbonsäurederivate synthetisiert, da diese in einem Syntheseschritt zugänglich sind (Schema 24).

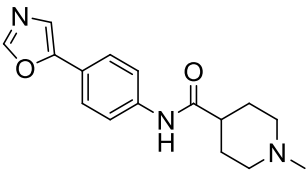
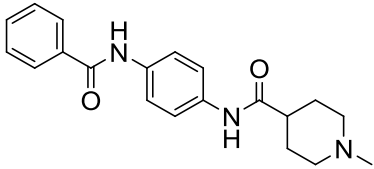
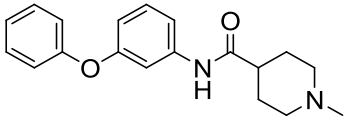
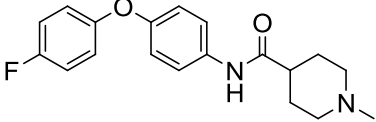


Schema 24: Syntheschema für *N*-Methylpiperidin-4-carbonsäureamidderivate.

Um zu eruieren, ob die Diaryletherpartialstruktur in **222** für eine Wirksamkeit essenziell ist, wurde zunächst das Benzamidderivat **241** synthetisiert. Da diese Verbindung im MTT-Assay auch in einer Konzentration von 100 μM keinen protektiven Effekt zeigt (Tab. 30), kann von einer Interaktion der Phenoxypartialstruktur mit der Zielstruktur ausgegangen werden.

Tabelle 30: Zytoprotektiver Effekt nach Glutamatschädigung. 12000 Zellen pro Vertiefung. 3 mM Glutamat. ***: $p > 0,001$; Scheffé Test. Assay: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.

		Inhibitorkonzentration [μM]					Zytotox [μM]
		1	10	25	50	100	
222		-	-	-	***	***	100
241		-	-	-	-	-	

		Inhibitorkonzentration [μ M]					Zytotox [μ M]
		1	10	25	50	100	
242		-	-	-	-	-	
243		-	-	-	-	-	
244		-	-	-	***	***	
245		-	-	-	***	***	

Das Sauerstoffatom der Etherpartialstruktur weist eine annähernd tetraedrische Bindungsgeometrie auf. Um die gesamte aromatische Etherpartialstruktur in **222** zu imitieren, müssen Aromaten eines *N*-Substituenten der Piperidin-4-carboxamidpartialstruktur ebenfalls in einem Winkel von etwa 104 ° zueinander stehen. Linear aufgebaute Derivate wie das (4-(Oxazol-5-yl)phenyl)derivat **242** oder das 4-Benzamidophenylderivat **243** können eine potenzielle Bindestelle der essenziellen Phenoxypartialstruktur nicht erreichen und sollten daher, wie das Benzamidderivat **241**, keine zytoprotektive Wirkung zeigen. Tatsächlich wurde weder für **242** noch für **243** eine zellprotektive Wirkung im MTT-Assay gemessen.

Werden die energetisch minimierten Strukturen des 4-Phenoxy- (**222**) und des 3-Phenoxyanilinderivats **244** überlagert (Abb. 106), wird deutlich, dass die Aromaten und die Aminofunktionen beider Verbindungen annähernd die gleichen molekularen Zielstrukturen adressieren können. Die Ether-Sauerstoffatome beider Verbindungen können in diesem Fall jedoch nicht die gleichen Bereiche der Zielstruktur adressieren. Im MTT-Assay wirkt **246** jedoch wie **222** unverändert in einer Konzentration von 50 μ M.

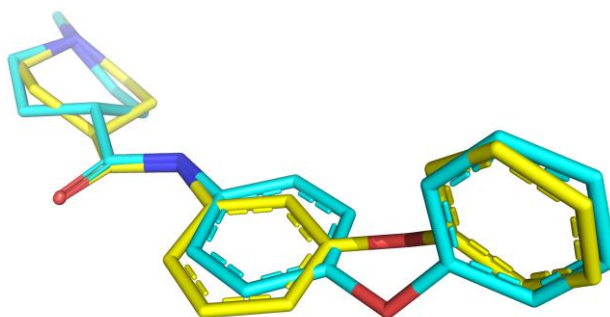


Abbildung 106: Überlagerung der Verbindungen 222 (cyan) und 244 (gelb) mit MOE.^[281] von S. GLINCA. Visualisiert mit PyMOL.^[166]

Die Bid-Inhibitoren BI-6C9 (**191**) und BI-11A7 (**192**) weisen eine aromatische Aminofunktion in 4'-Position der 4-Phenylsulfanylanilinpartialstruktur auf, die sowohl als Wasserstoffbrückenakzeptor als auch -donor wirken kann. Um zu eruieren, ob ein 4'-Fluorsubstituent die Funktion eines Wasserstoffbrückenakzeptors ausüben kann, wurde das 4'-fluorsubstituierte Derivat **245** synthetisiert und getestet. Gegenüber der 4'-unsubstituierten Ausgangsverbindung **222** führt die formale Einführung des Fluoratoms zu keiner Wirkungssteigerung. Beide Derivate wirken im MTT-Assay erst in einer Konzentration von 50 μ M zytoprotektiv. Zumindest zeigt sich, dass ein 4-Fluorsubstituent ohne Wirkungsverlust toleriert wird, wodurch *in vivo* eine Metabolisierung an dieser Position verhindert würde.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass es auch ohne Kenntnis der dreidimensionalen Zielstruktur möglich ist, pharmakologisch aktive Verbindungen zu entwickeln. Ausgehend von kleinen Fragmenten wie 4-Phenoxylanilin (**194**) lassen sich durch umfangreiche Derivatisierung und biologischer Testung Informationen über Struktur-Wirkungsbeziehungen gewinnen. Diese erlauben, im Gegensatz etwa zum *scaffold-hopping*, eine schrittweise strukturelle Optimierung der Ausgangsverbindung zu größeren Verbindungen wie dem Propiophenonderivat **228**. Eine Überlagerung der aktiven entwickelten Derivate wie in Abbildung 105 ermöglicht die Erstellung weiterer ligandenbasierter Pharmakophormodelle, mit deren Hilfe virtuelle Datenbanken nach neuen potenziellen Wirkstoffen durchsucht werden können. Sobald es möglich ist, ausgewählte synthetisierte Verbindungen mit dem Bid-Protein zu kokristallisieren, lassen sich durch strukturbasiertes Wirkstoffdesign gezielt AS der Inhibitor-Bindestelle adressieren.

C. Zusammenfassung

C.1. Entwicklung strukturell neuartiger Typ II FAS-Inhibitoren als Wirkstoffe gegen multiple Entwicklungsstadien von Apicomplexa

Infektionen durch Apicomplexa zählen sowohl zu den häufigsten parasitären Erkrankungen als auch zu den häufigsten globalen Todesursachen des Menschen.^[9,113] Zu diesem Stamm gehören neben mehreren tausend weiteren Protozoen die Erreger der Malaria (*Plasmodium spp.*) und der Toxoplasmose (*Toxoplasma gondii*). Die Parasiten zeigen einen Generationswechsel mit komplexen asexuellen und sexuellen Entwicklungszyklen in verschiedenen Wirten.

Die Übertragung der Malaria erfolgt durch Mücken der Gattung *Anopheles*. Im Menschen erfolgt nach Infektion zunächst eine exoerythrozytäre Inkubationsperiode in der Leber. Die typischen Krankheitssymptome treten erst etwa eine Woche später auf, wenn Erythrozyten von den Parasiten befallen werden. Erst mit der Entwicklung dieser Blutstadien bildet der Parasit auch sexuelle Formen, die eine Mücke bei der Blutmahlzeit infizieren können und so die Übertragung von Mensch zu Mensch ermöglichen.

Der Nutzen bisher eingesetzter Malariamedikamente wird durch zunehmende Resistenzen und Unverträglichkeit eingeschränkt.^[100,101] Zudem wirken die meisten gängigen Wirkstoffe ausschließlich auf das asexuelle Blutstadium von *Plasmodium* und können daher weder die Erkrankung selbst noch ihre Übertragung verhindern. Für eine kausale prophylaktische Therapie ist jedoch die Wirksamkeit gegen ein präerythrozytäres Stadium Voraussetzung. In diesem Fall werden auch die sexuellen infektiösen Formen nicht gebildet, wodurch eine Übertragung der Krankheit über den Vektor unmöglich wird.

Inhibitoren der Fettsäuresynthese stellen hervorragende potenzielle Wirkstoffe gegen Infektionskrankheiten durch Apicomplexa dar: In diesen Organismen erfolgt die Synthese von Fettsäuren, wie in Pflanzen und Bakterien, durch separate Enzyme (Typ II FAS). Säugetiere verwenden dagegen zur Synthese von Fettsäuren ein großes, multifunktionales Enzym (Typ I FAS). Durch *knockout*-Experimente konnte gezeigt werden, dass sowohl *Toxoplasma*^[228] als auch *Plasmodium* im Leberstadium^[162,163] auf die *de novo* Synthese von Fettsäuren angewiesen sind.

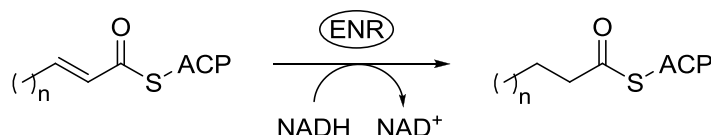


Abbildung 107: Reduktion des Acyl-Carrier Protein (ACP)-gebundenen Fettsäureintermediats durch die Enoyl-ACP-Reduktase (ENR).

Die Enoyl-ACP-Reduktase (ENR) ist das Schlüsselenzym der Typ II FAS. Sie katalysiert während des Elongationszyklus den letzten Reduktionsschritt des ACP-gebundenen Fettsäureintermediats (Abb. 107). Ein bekannter Inhibitor des ENR-Enzyms unterschiedlicher Organismen ist das in Hygieneprodukten verwendete Triclosan (**29**, Abb. 108). Das Diphenyletherderivat eignet sich jedoch auf Grund schlechter pharmakokinetischer Eigenschaften nicht zur systemischen Therapie.^[249,250]

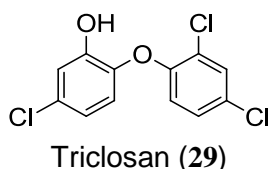


Abbildung 108: Chemische Struktur von Triclosan.

Die einzelnen Enzyme der Typ II FAS sind in unterschiedlichen Organismen über die Grenzen der Arten hinweg hochkonserviert.^[188] So zeigen auch die ENR-Enzyme aus *P. falciparum* und *T. gondii* eine ausgeprägte Homologie ihrer aktiven Zentren und stimmen im Bindungsmodus des Inhibitors Triclosan (**29**) überein (Abb. 109).^[203] Viele Typ II FAS-Inhibitoren, wie auch Triclosan (**29**), zeigen außer gegen präerythrozytäre Formen von *Plasmodium* auch eine Wirkung gegen Blutstadien des Parasiten.^[244] Substanzen, die sowohl gegen das Blut- als auch gegen das Leberstadium des Malariaerregers wirken, sind das Ziel der aktuellen Wirkstoffentwicklung.^[4] Ein strukturell neuartiger und optimierter FAS-Inhibitor könnte diese Forderungen erfüllen und sowohl kausal prophylaktisch gegen Malaria wirken, die Übertragung der Krankheit unterbinden, als auch eine bestehende Infektion heilen.

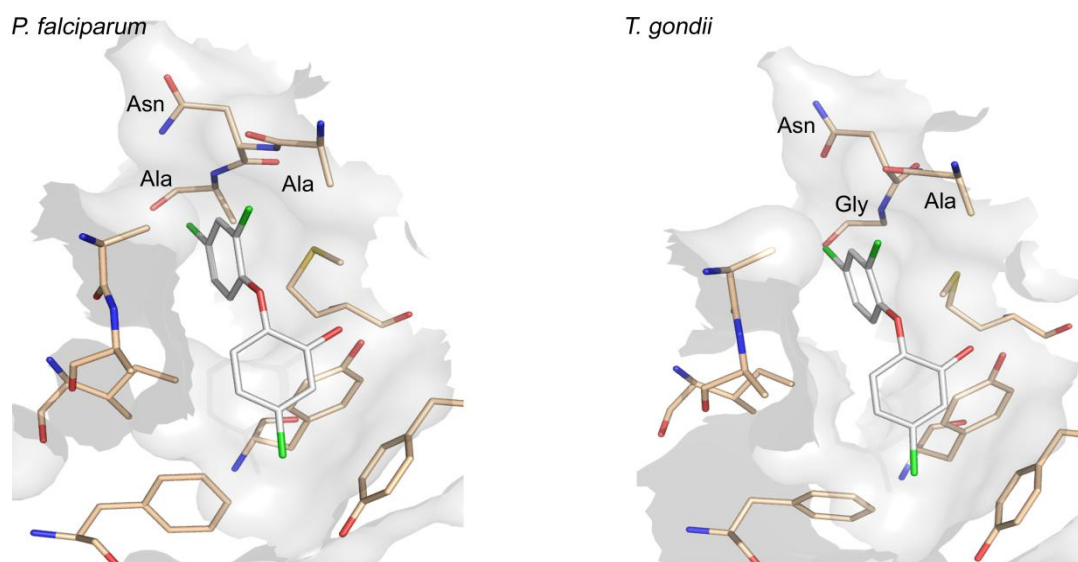


Abbildung 109: Aktive Zentren der Enoyl-ACP-Reduktase mit gebundenem Inhibitor (grau) von *P. falciparum* (PDB 1NHG^[207]) und *T. gondii* (PDB 2O2S^[203]). Die Kofaktoren wurden ausgeblendet. Visualisiert mit PyMOL.^[166]

Um einen derartigen Wirkstoff zu entwickeln, wurde zunächst ein *virtual screening*^q von 14.800 Verbindungen einer Datenbank der Arbeitsgruppe Prof. Dr. KLEBE durchgeführt. Hierfür wurden zwei gelöste Kristallstrukturen der ENR von *P. falciparum* (PDB 2O2Y^[203], PDB 2OOS^[225]) verwendet. Aus den Ergebnissen wurden acht strukturell heterogene potenzielle Inhibitoren ausgewählt und synthetisiert. Von diesen ist das Salicylsäureamidderivat **60** in niedriger mikromolarer Konzentration im zellbasierten Assay^r sowohl gegen intraerythrozytäre *P. falciparum* als auch gegen *T. gondii* Tachyzoiten^s wirksam. Im Folgenden gelang es, ausgehend von **60**, durch die formale Einführung lipophiler Gruppen in 2-Position der Benzoesäurepartialstruktur Verbindungen zu erhalten, die das ENR-Enzym von *T. gondii*^t in einer Konzentration von 1 μM um mehr als 50 % hemmen (Abb. 110). Gleichzeitig zeigen diese Verbindungen eine verbesserte Wirkung in den zellbasierten Assays. (Tab. 31)

^q Das *virtual screening* wurde von S. GLINCA, Arbeitsgruppe Prof. Dr. G. KLEBE, Universität Marburg durchgeführt.

^r Die Bestimmung der Wirksamkeit gegen kultivierte intraerythrozytäre *P. falciparum* erfolgte eigenständig in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. M. LANZER, Universitätsklinikum Heidelberg.

^s Zellbasierte Proliferationsassays mit *T. gondii* Tachyzoiten wurden von B. SHIUN, Arbeitsgruppe Prof. Dr. R. MCLEOD, The University of Chicago, durchgeführt.

^t Die Bestimmung der Wirksamkeit der Testsubstanzen im *TgENR*-Enzymassay erfolgte durch G. AFANADOR, Arbeitsgruppe J.T. PRIGGE, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health.

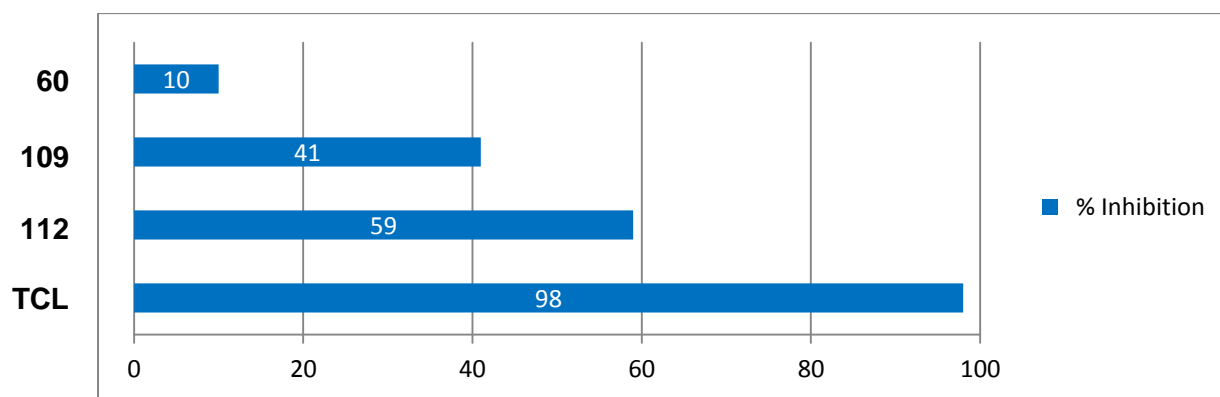
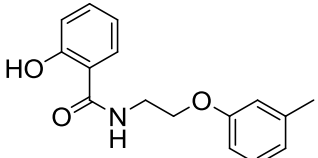
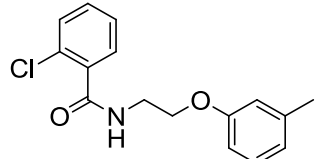
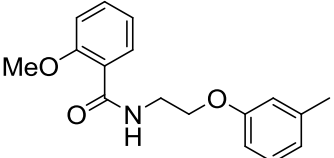


Abbildung 110: Inhibition der TgENR in %. Die Konzentration der Verbindungen im Assay war 1 μ M. TCL: Triclosan, 98 %. Assay: G. AFANADOR.

Tabelle 31: Testwerte von *m*-Tolyloxyethylderivaten. Chloroquin: 110 nM. Zytotoxizitätsmessung: H.-M. DAHSE.

		IC ₅₀ (<i>P. falciparum</i>) [μ M]	CC ₅₀ (HeLa) [μ M]	SI
60		7,9 \pm 0,3	59,3	7,5
109		7,5 \pm 0,5	>172,6	>23,0
112		2,5 \pm 0,1	120,2	48,1

Um diese Verbindungen weiter strukturell zu optimieren, wurde eine virtuelle Substanzbibliothek, basierend auf den bei der Synthese als Edukte verwendeten Verbindungsklassen, erstellt. Nach mehrfachem *docking* dieser 430.000 potenzielle Liganden umfassenden virtuellen Bibliothek in die Kristallstrukturen der ENR aus *P. falciparum* wurden die vielversprechendsten Derivate synthetisiert und getestet. Das *ranking* der *docking*-Posen zeigte insbesondere für Naphthoxyderivate eine verbesserte Affinität zum Enzym (Abb. 111).

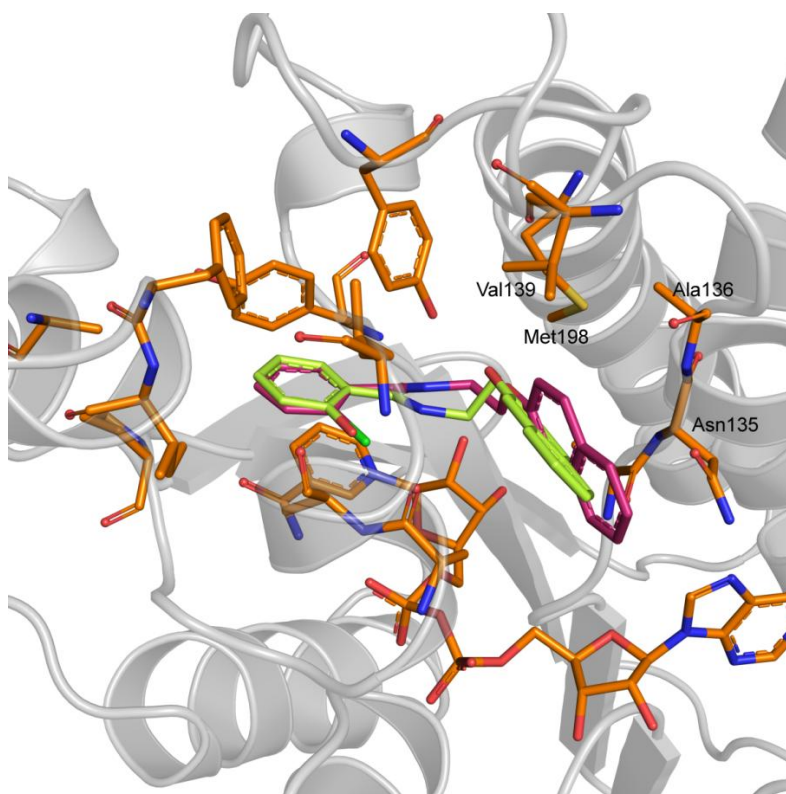


Abbildung 111: *Docking-Lösung* für die 2-Naphthoxyderivate **134** (violett) und **136** (grün). *Docking* und Visualisierung mit PyMOL:^[166] S. GLINCA,^[272]

Tatsächlich ließ sich durch die formale Substitution der *m*-Tolyloxy- gegen eine 2-Naphthoxypartialstruktur die Wirkung der Inhibitoren im Enzym-Assay deutlich steigern. Das 2-Methoxybenzoesäurederivat **135** inhibiert die ENR von *T. gondii* in einer Konzentration von 1 μ M um 71 %. Aus dieser Substanzklasse stellt **135** gleichzeitig den in der vorliegenden Arbeit aktivsten Inhibitor des ENR-Enzyms dar.

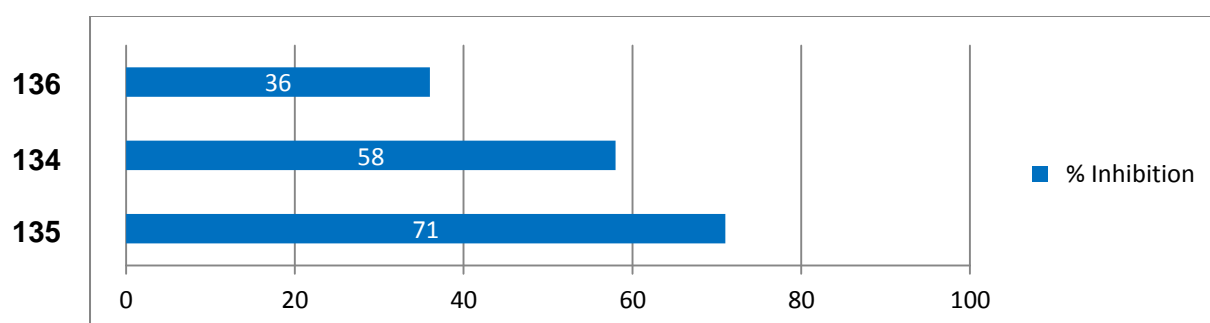
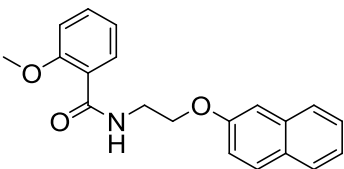


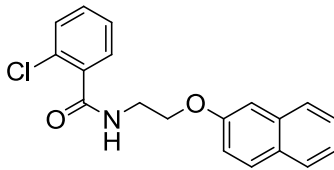
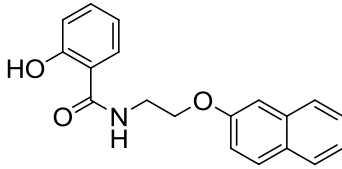
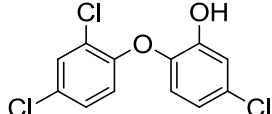
Abbildung 112: Inhibition der *TgENR* in %. Die Konzentration der Verbindungen im Assay war 1 μ M. TCL: Triclosan, 98 %. Assay: G. AFANADOR.

Tabelle 32: Testwerte des im zellbasierten Assay gegen *T. gondii* aktivsten Derivats. Assay B. SHIUN.

		IC ₅₀ (<i>T. gondii</i>) [μM]	CC ₅₀ (HeLa) [μM]
135		0,1-1 μM	59,7

135 inhibiert außerdem das Wachstum von *T. gondii* Tachyzoiten im zellbasierten Assay in submikromolarer Konzentration (Tab. 32). Die Verbindung stellt das in diesem Assay aktivste Aryloxyalkylderivat der vorliegenden Arbeit dar. Auch im zellbasierten Assay gegen erythrozytäre *P. falciparum* zeigen die 2-Naphthoxyderivate eine verbesserte Wirkung. Das 2-Chlorbenzoesäurederivat **134** übertrifft mit einer IC₅₀ von 1,7 μM die Wirkung von Triclosan (**29**) um etwa den Faktor zwei und stellt das aktivste getestete Derivat dieser Substanzklasse dar (Tab. 33). Die Testwerte für das 2-Methoxyderivat **135** stehen noch aus.

Tabelle 33: Testwerte der 2-Naphthoxyethylsterivate. Chloroquin: 110 nM. Zytotoxizitätsmessung: H.-M. DAHSE.

		IC ₅₀ (<i>P. falciparum</i>) [μM]	CC ₅₀ (HeLa) [μM]	SI
134		1,7 ± 0,1	89,6	52,7
136		3,0 ± 0,2	>162,7	>54,2
TCL (29)		3,3 ± 0,3	33,2	10,0

Durch klassische strukturelle Optimierung und rationales Wirkstoffdesign konnten mit den 2-Naphthoxyethylbenzamidderivaten eine Klasse von Inhibitoren entwickelt werden, die eine gute Wirksamkeit gegen das TgENR Enzym zeigen. Gleichzeitig sind diese Inhibitoren im zellbasierten Assay gegen *P. falciparum* wirksam, woraus sich u. a. auf eine gute Zellgängigkeit schließen lässt. Damit weisen diese Verbindungen alle Eigenschaften auf, um auch das Wachstum präerythrozytärer Plasmodien zu inhibieren. Für die nachfolgenden Versuche an

Sporozoiten und in Hepatozyten proliferierenden Trophozoiten^u wurden das 2-Chlorbenzoesäureamid- (**134**) und Salicylsäureamidderivat **136** ausgewählt. Huh7-Zellen wurden mit *P. berghei* Sporozoiten (aus den Speicheldrüsen infizierten *Anopheles stephensi* präpariert) infiziert und mit den Verbindungen **134** und **136** in einer Konzentration von 0,2, 2 und 40 µM versetzt. Nach 24 h und 60 h wurde die Größe der Leberstadien bestimmt.

Im Gegensatz zu Primaquin (**11**) führt eine Behandlung mit den beiden Inhibitoren **134** und **136** bereits nach 24 h zu einem morphologischen Defekt von frühen Leberstadien (Abb. 113). Gleichzeitig ist die Größe dieser Trophozoiten bereits signifikant reduziert (Abb. 114). Nach 60 h führen beide Inhibitoren bereits in einer Konzentration von 2 µM zu einer deutlichen Reduktion des Wachstums von Leberstadien (Abb. 114 und 115). Eine ähnliche Wirkung zeigt Primaquin (**11**) erst in einer Konzentration von 10 µM. Nach diesen Ergebnissen sind die Naphthoxyethylbenzamidderivate **134** und **136** in ihrer Wirksamkeit *in vitro* dem in der Therapie gebräuchlichen Primaquin (**11**) deutlich überlegen. **134** und **136** sind *in vitro* sowohl gegen die Leberstadien von *P. berghei* als auch gegen intraerythrozytäre *P. falciparum*^v um mindestens den Faktor fünf wirksamer.^[288]

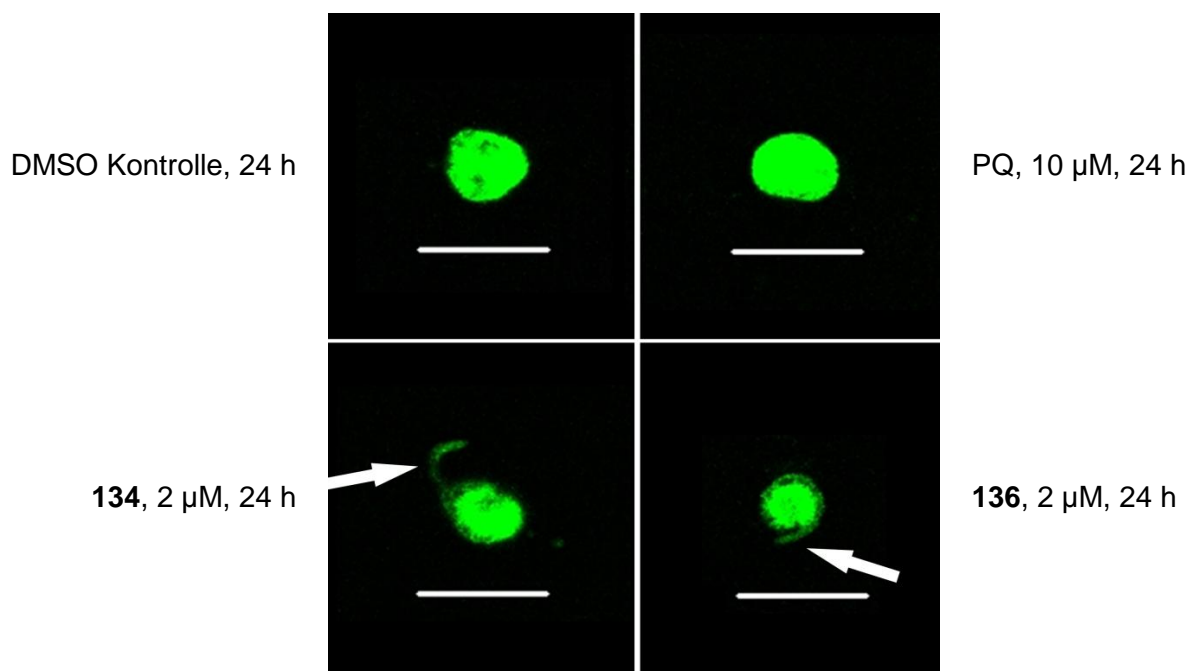


Abbildung 113: Durch **134** und **136** induzierte morphologische Defekte von frühen Leberstadien. PQ: Primaquin (**11**). Maßstabsbalken: 10 µm. Alle Experimente und Bilder: J. SATTLER.

^u Die Bestimmung der Wirkung gegen präerythrozytäre Stadien erfolgte durch J. SATTLER, Arbeitsgruppe Dr. A.-K. MÜLLER, Universitätsklinikum Heidelberg

^v Primaquin zeigt gegen erythrozytäre *P. falciparum*, je nach Stamm, eine IC₅₀ von 10-20 µM.^[288]

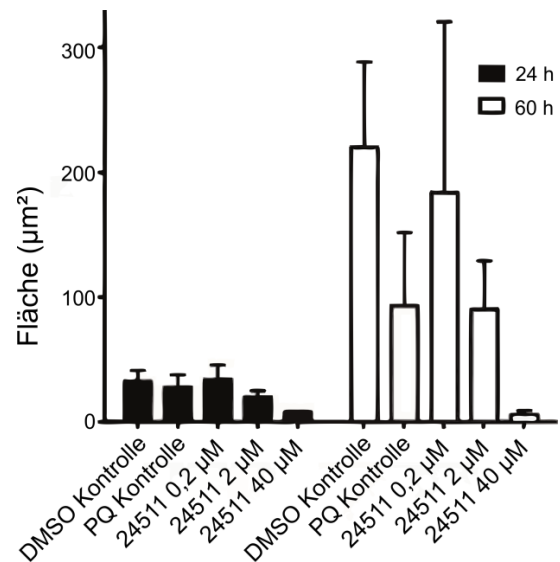
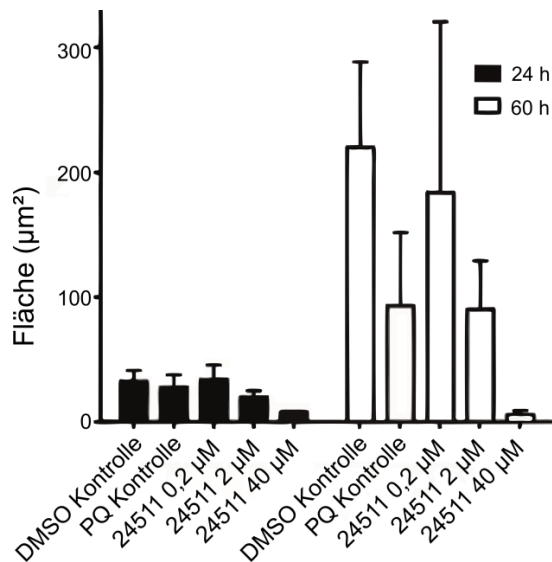
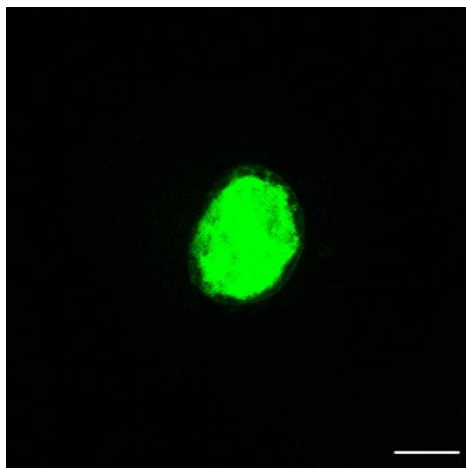
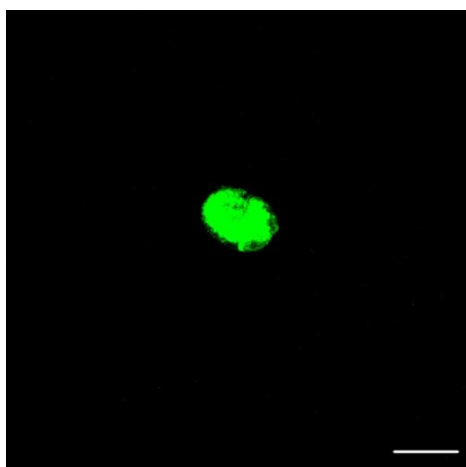


Abbildung 114: Ergebnisse des Leberstadium-Wachstums-Assays. Angegeben ist die durchschnittlich gemessene Fläche der Trophozoiten. Alle Experimente und Bilder: SATTLER und MÜLLER. Verbindung 24511: 136. 24422: 134.



DMSO Kontrolle, 60 h



PQ, 10 µM, 60 h



134, 2 µM, 60 h

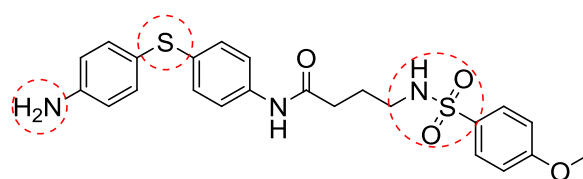
Abbildung 115: *P. berghei* Sporozoiten aus den Speicheldrüsen von Anopheles entwickeln sich in Huh7 Zellen. Die Trophozoiten wurden indirekt durch zwei Antikörper (indirect immunofluorescent antibody, IFA) fluoreszenzmarkiert und durch konfokale Laser-Mikroskopie visualisiert. PQ: Primaquin (11). Maßstabsbalken: 10 µm. Alle Experimente und Bilder: J. SATTLER.

C.2. Entwicklung potenzieller Bid-Inhibitoren als Wirkstoffe gegen neuronalen Zelltod

Proliferation und Zelltod im Gewebe von Säugetieren sind gewöhnlich im Gleichgewicht. Im Gegensatz zu anderen Zellen im Körper von Säugetieren sterben Neurone jedoch nicht regelmäßig, um dann durch neue Zellen ersetzt zu werden. Auch nach Verletzungen und Gewebsverlust proliferieren sie nicht, um etwa zerstörtes bzw. fehlendes Gewebe zu ersetzen. Der Zelltod von Neuronen tritt ausschließlich im Rahmen der pränatalen physiologischen Entwicklung oder als pathologischer Prozess auf Grund von Krankheit auf.^[323]

Apoptose ist ein gerichteter, unter normalen Umständen physiologischer Prozess und tritt z. B. während der Entwicklung des Gehirns oder in virusinfizierten Zellen auf. Gleichzeitig wird dieser Vorgang mit dem pathologischen progredienten Verlust von Neuronen bei der Alzheimer-Krankheit, Parkinson und auch mit ischämischem oder traumatischem Insult in Verbindung gebracht.^[324]

Der Bid Inhibitor BI-6C9^[391,392] (**191**, Abb. **116**) zeigt *in vitro* eine ausgeprägte neuroprotektive Wirkung. HT-22-Zellen werden durch die Verbindung vollständig vor glutamatinduziertem Zelltod geschützt. BI-6C9 (**191**) wirkt hier auch protektiv, wenn es bis zu 8 h nach Glutamataexposition angewendet wird.^[388] Im Gegensatz zu den Ergebnissen aus *in vitro* Versuchen lässt sich jedoch in Tiermodellen für akute neuronale Schädigung kein protektiver Effekt für BI-6C9 (**191**) messen.^[455]



BI-6C9 (**191**)

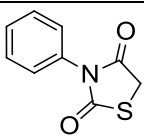
Abbildung 116: Chemische Struktur des Bid-Inhibitors BI-6C9 (**191**). Markiert sind Strukturelemente, die möglicherweise für die fehlende Wirkung *in vivo* verantwortlich sind.

In der Annahme, dass die fehlende Wirkung *in vivo* ausschließlich auf pharmakokinetischen Gründen^[447,448] bzw. strukturellen Mängeln des Inhibitors beruht, wurden strukturelle Analoga von BI-6C9 (**191**) synthetisiert und getestet. Dabei sollte insbesondere von der aromatischen Aminogruppe, sowie von der Sulfanyl- und der Sulfonamidfunktion abgesehen werden und diese, wenn nötig, äquivalent substituiert werden. Auf diese Weise ist es in der vorliegenden Arbeit gelungen, strukturell neuartige, *in vitro* neuroprotektive Verbindungen zu entwickeln, die ähnliche Bindungseigenschaften wie der Bid Inhibitor BI-6C9 (**191**) aufweisen.

Hierfür wurde zum einen ein ligandenbasiertes Pharmakophormodell^w erstellt und durch *screening* der Zinc-Datenbank^[458] potenzielle Liganden erhalten. Gleichzeitig gelang es durch klassische strukturelle Variation in Kombination mit biologischer Testung essenzielle Strukturmerkmale der Inhibitoren zu identifizieren und zu optimieren.

Die so erhaltenen Verbindungen wurden in einem MTT-Assay^x an HT-22-Zellen getestet. Diese immortalisierten hippokampalen Neurone der Maus wurden zuvor mit zytotoxischen Konzentrationen von Glutamat behandelt (3 oder 4 mM). Der Bid-Inhibitor BI-6C9 (**191**) kann diese Zellen in einer Konzentration von 10 μ M vor dem induzierten Zelltod retten.

Tabelle 34: Zytoprotektiver Effekt nach Glutamatschädigung. 8000 Zellen pro Vertiefung, 4 mM Glutamat. *: $p > 0,001$; Scheffé Test. Assay: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.**

		Inhibitorkonzentration [μ M]					Zytotox. [μ M]
		1	10	25	50	100	
142		-	-	***	***	***	-

Durch formale sukzessive Reduktion des Grundgerüsts eines zuvor als zytoprotektiv identifizierten Rhodaninderivats (nicht gezeigt) um nicht-essenzielle Strukturelemente wurde das *N*-phenylsubstituierte Thiazolidin-2,4-dionderivat **142** erhalten. Diese Verbindung zeigt in einer Konzentration von 25 μ M einen ausgeprägten zytoprotektiven Effekt (Tab. 34). Auf Grund von fehlender Zytotoxizität und dem fragmentartigen relativen Molekulgewicht von weniger als 200 g/mol stellt **142** eine vielversprechende Ausgangsverbindung für eine weitere strukturelle Optimierung dar.

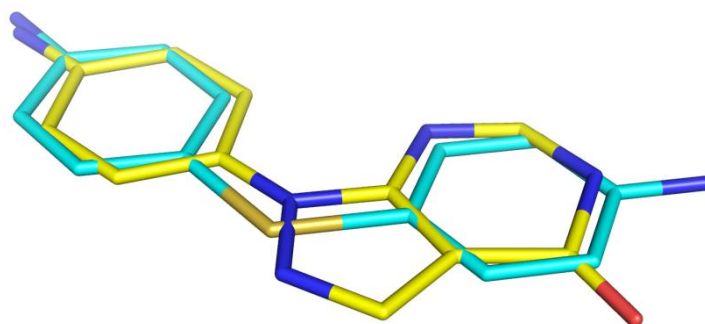


Abbildung 117: Überlagerung der Strukturen von BI-2A7 (188, cyan) und 202 (gelb).

^w Entwurf des Pharmakophormodells sowie *screening*: S. GLINCA, Arbeitsgruppe Prof. Dr. G. KLEBE, Universität Marburg.

^x MTT Assays wurden von R. HARTMANNSGRUBER und S. OPPERMAN, Arbeitsgruppe Prof. Dr. C. CULMSEE, Universität Marburg durchgeführt

Um weitere strukturell neuartige und zytoprotektive Derivate zu entwickeln, wurde ein ligandenbasiertes Pharmakophormodell entworfen. Hierzu wurden funktionellen Gruppen einer energetisch minimierten Konformation des Bid-Inhibitors BI-6C9 (**191**) die entsprechenden potenziellen Bindungseigenschaften zugeordnet. Im Folgenden wurde die Zinc-Datenbank^[458] nach Liganden durchsucht, welche in ihren Bindungseigenschaften die Anforderungen des dreidimensionalen Pharmakophormodells erfüllen.

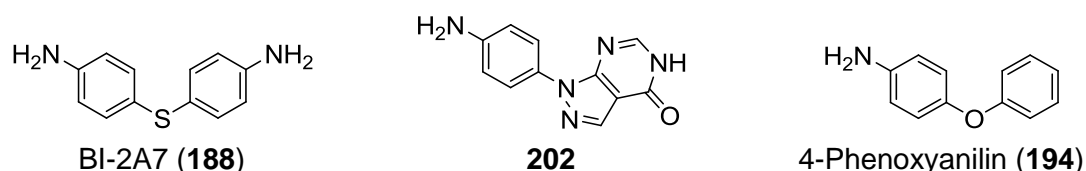
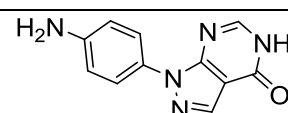


Abbildung 118: Chemische Strukturen des Sulfanylderivats BI-2A7 (**188**) und des Analogons **202**.

Ein unter den Ergebnissen auffallend häufig auftretendes Strukturelement stellte das 1-arylsubstituierte Pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-4(5*H*)-onderivat **202** dar (Abb. 118). Dessen aromatischer 1-Substituent und die Pyrimidin-4(5*H*)-onpartialstruktur stehen im optimalen Winkel zueinander, um die Diarylthioetherpartialstruktur der von BECATTINI et al.^[391] entwickelten Verbindungen zu imitieren (Abb. **117**). Die exozyklische Aminogruppe sowie das zyklische Amid von **202** erfüllen ebenfalls die Anforderungen des Pharmakophors an Wasserstoffbrückendonoren/-akzeptoren an diesen Positionen. Im MTT-Assay zeigt **202** in einer Konzentration von 25 µM einen zytoprotektiven Effekt, jedoch keine Zytotoxizität gegenüber HT-22 Zellen (Tab. 35). Damit eignet sich auch **202** als Ausgangsverbindung für eine weitere strukturelle Optimierung.

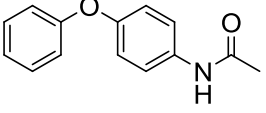
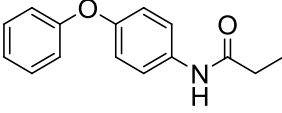
Tabelle 35: Zytoprotektiver Effekt nach Glutamatschädigung. 8000 Zellen pro Vertiefung. 4 mM Glutamat. ***: $p > 0,001$; Scheffé Test. Assay: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.

		Inhibitorkonzentration [µM]					Zytotox [µM]
		1	10	25	50	100	
202				***	***	***	-

Zusätzlich wurden offenkettige Carbonsäureamidderivate von 4-Phenoxyanilin (**194**) synthetisiert. Für dieses Strukturelement wurde bereits in vorherigen Arbeiten der Diarylthioetherpartialstruktur ähnliche Bindungseigenschaften berechnet.^[456] An Hand des *N*-Propionamidderivats **209** konnte erstmals gezeigt werden, dass sich durch *N*-(4-Phenoxyphenyl)alkylamidderivate die zytoprotektive Wirkung von BI-6C9 (**191**) imitieren lässt. **209** kann HT-22 Zellen

in einer Konzentration von 25 μM vor der glutamatinduzierten Zytotoxizität schützen ohne dabei selbst zytotoxisch zu wirken (Tab. 36).

Tabelle 36: Zytoprotektiver Effekt nach Glutamatschädigung. 8000 Zellen pro Vertiefung. 4 mM Glutamat. *: $p > 0,001$; Scheffé Test. Assay: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.**

		Inhibitorkonzentration [μM]					Zytotox. [μM]
		1	10	25	50	100	
208		-	-	-	-	-	-
209		-	-	***	***	***	-

Längerkettige Derivate wie **212** zeigen einen deutlichen Wirkungsverlust, obwohl sie strukturell dem Bid-Inhibitor BI-6C9 (**191**) entsprechen. Das 4-Piperidincarbonsäurederivat (**213**, Abb. 119) dagegen ist konformativ deutlich eingeschränkter und verliert bei der Bindung an eine Zielstruktur weniger Freiheitsgrade.^[1]

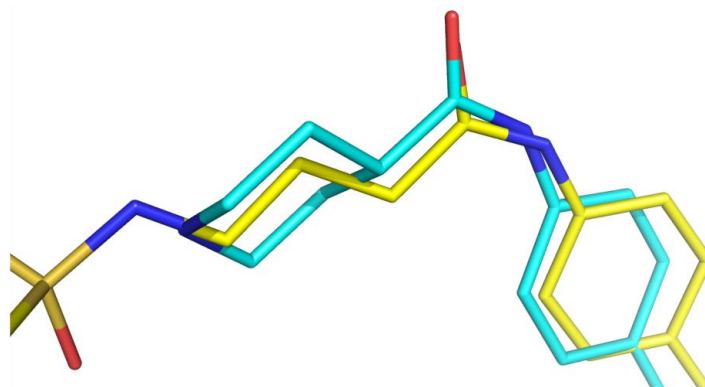
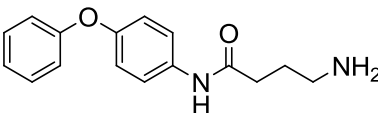
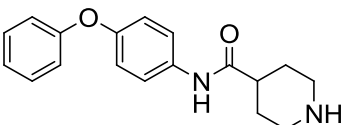


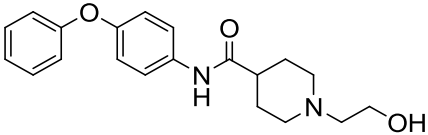
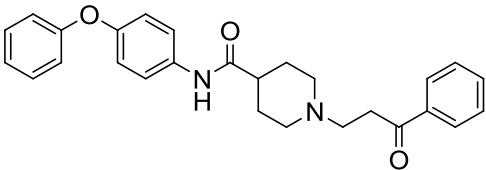
Abbildung 119: Überlagerung der energetischen Minima von BI-6C9 (191, gelb) und dem Piperidin-4-carbonsäurederivatderivat 214 (cyan) mit fconv.^[457] Visualisiert mit PyMOL.^[166]

Tabelle 37: Zytoprotektiver Effekt nach Glutamatschädigung. 8000 Zellen pro Vertiefung. 4 mM Glutamat. *: $p > 0,001$; Scheffé Test. Assay: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.**

		Inhibitorkonzentration [μM]					Zytotox. [μM]
		1	10	25	50	100	
212		-	-	-	-	-	-
214		-	***	***	***	***	100

Tatsächlich zeigt das 4-Piperidincarbonsäurederivat **214** von den bisher synthetisierten Verbindungen die deutlichste zytoprotektive Wirkung im MTT-Assay. Bereits In einer Konzentration von 10 μM schützt **214** HT-22 Zellen signifikant ($p > 0,001$; Scheffé Test) vor glutamatinduzierter Zytotoxizität (Tab. 37).

Tabelle 38: Zytoprotektiver Effekt nach Glutamatschädigung. 12000 Zellen pro Vertiefung. 3 mM Glutamat. *: $p > 0,001$; Scheffé Test. Assay: Arbeitsgruppe C. CULMSEE.**

		Inhibitorkonzentration [μM]					Zytotox [μM]
		1	10	25	50	100	
223		***	***	***	***	***	100
228		***	***	-	-	-	100

Um Bereiche der Zielstruktur zu adressieren, die Wechselwirkungen mit der polaren Sulfonamidgruppe von BI-6C9 (**191**) sowie mit der aromatischen Benzolsulfonamidpartialstruktur ausüben, wurden *N*-alkylsubstituierte Derivate synthetisiert und getestet. Das *N*-(2-hydroxyethyl)- (**223**) sowie das *N*-Propiophenonderivat **228** zeigen bereits in einer Konzentration von 1 μM einen signifikanten ($p > 0,001$; Scheffé Test) protektiven Effekt (Tab. 38).

D. Experimenteller Teil

D.1. Allgemeine Arbeitsvorschriften zur Biologischen Testung

D.1.1. Zellkultur von HFF-Zellen

Die Kultivierung von humanen Vorhaut-Fibroblasten (*human foreskin fibroblasts*, HFF) erfolgte, wie bereits von GUBBELS et al.^[462] beschrieben, durch B. SHIUN^y in *Iscove's Modified Dulbecco's Medium* (IMDM) mit 10 % Hitze-inaktiviertem fötalem Rinderserum (*Invitrogen*), 1 % Glutamax (*Invitrogen*) and 1 % Penicillin-Streptomycin-Fungizone® (PSF, *Invitrogen*).

D.1.2. Wirkstoff-Proliferations-Assay gegen *T. gondii* Tachyzoiten

HFF-Zellen wurden in 96-*well*-Mikrotiterplatten eingebracht. Konfluente Fibroblasten wurden mit $3,5 \times 10^3$ Tachyzoiten eines YFP (*yellow fluorescent protein*)-transfizierten *T. gondii* RH-Stamms infiziert. Zunächst wurden die Parasiten 2 h kultiviert, um eine Invasion in die Zellen zu ermöglichen. Danach wurden die Testsubstanzen in definierten Konzentrationen hinzugegeben. Die infizierten Fibroblasten wurden 72 h bei 37 °C inkubiert. Die Quantifizierung der Parasiten erfolgte durch Fluoreszenzmessung bei der Wellenlänge 540 nm mit einem Synergy™ H4 Hybrid Multi-Mode Microplater Reader. Hieraus wurde auf die Effektivität der Inhibitoren geschlossen. Die Viabilität der HFF-Zellen wurde durch das Tetrazolium-Reagenz WST-1 bestimmt.

D.1.3. Klonierung, Sequenzierung, Exprimierung und Reinigung der *Tg*ENR

Klonierung, Sequenzierung, Exprimierung und Reinigung der *Tg*ENR erfolgten wie bereits von MUENCH et al.^[463] und KAPUST et al.^[464] beschrieben. Die Gensequenz der *Tg*ENR wurde aus cDNA eines RH-Stamms von *T. gondii* amplifiziert. Zelllysate wurde mit einer HiTrap Chelating HP-Säule (*Amersham Biosciences*) unter Verwendung eines linearen Imidazolgradienten durch Affinitätschromatographie bei pH 7,5 aufgereinigt.

^y Division of Ophthalmology and Visual Sciences - Department of Surgery, University of Chicago

D.1.4. TgENR-Enzyminhibitions-Assay.

TgENR-Assays wurden von G. AFANADOR^z gemessen. Die Aktivität der TgENR wurde photometrisch über den Verbrauch von NADH bestimmt. Die Reaktion wurde in 20 nM TgENR, 100 mM Na⁺/K⁺-Phosphat-Puffer pH = 7.5, 150 mM NaCl, und 100 µM NADH (*Sigma*) verdünnt zu einem Endvolumen von 50 µl durchgeführt. In DMSO gelöste Testverbindungen wurden der Reaktionsmischung zugegeben, sodass die DMSO-Endkonzentration 2 % betrug.

D.1.5. Zellkultur von *P. falciparum*

D.1.5.1. Eigenständige Arbeiten am Universitätsklinikum Heidelberg

Wie zuvor beschrieben^[107] wurde *P. falciparum* (Stamm Dd2) in humanen Erythrozyten der Blutgruppe A+ kultiviert. Hierfür wurde ein Substrat aus 0,5 l RPMI 1640 Zellkulturmedium (enthält 2 mM L-Glutaminsäure, 25 mM HEPES), 200 µl Gentamycin-Lösung (20 µg/ml), 10% humanes Serum der Blutgruppe A+ und 5 ml einer 10 mM Hypoxanthinlösung verwendet. Zur Herstellung des Serums wurden 500 ml Blutplasma durch Zugabe von 8 ml einer 1 M Calciumchloridlösung zur Koagulation gebracht und bei 37°C bis zum Verfestigen gelagert. Einzelne Aliquote wurden 1 h bei 3800 rpm zentrifugiert, wobei die automatische Bremse entfernt wurde. *P. falciparum* wurden in Petrischalen (*Greiner*) mit 14 ml Substrat und 0,5 ml einer Suspension gepackter Erythrozyten in einer Atmosphäre von 5 % O₂, 3 % CO₂ und 92 % N₂ bei 37 °C inkubiert. Die Parasitämie der Kulturen wurde täglich durch Blutaussstrich und Giemsa-Färbung (*Roth*) an einem *Zeiss* Axiolab Mikroskop überprüft. Bei einer Parasitämie von größer 5 % wurde die Kultur verdünnt. Hierzu wurde 1 ml der infizierten, suspendierten Erythrozyten in eine neue Kulturschale mit 13 ml frischem Substrat und 0,7 ml gepackten, nichtinfizierten Erythrozyten gegeben und dort resuspendiert. Lag die Parasitämie unter 5 %, wurde das über den sedimentierten infizierten Erythrozyten stehende Substrat entfernt und durch neues ersetzt.

D.1.5.2. Arbeiten von S. BAUMEISTER an der Universität Marburg

P. falciparum (Stamm Dd2) wurde in humanen Erythrozyten der Blutgruppe A+ kultiviert. Als Substrat wurde RPMI-1640 Medium (enthält 0,30 g/ml (L)-Glutamin, 25 mM HEPES-Puffer, 0.2 % Natriumhydrogencarbonat und 20 µg/ml Gentamicin) mit 10 % humanem Serum der Blutgruppe A verwendet. Zur Herstellung des Serums wurde Plasma hitzebehandelt.

^z Arbeitsgruppe von Prof. Dr. PRIGGE am Department of Molecular Microbiology and Immunology an der Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health

Die Erreger wurden in 250 ml Kunststoff-Kulturflaschen (*Greiner*) mit Substrat und humanen Erythrozyten der Blutgruppe A (Marburger Blutbank) bei 5 % CO₂, 5 % O₂ und 90 % N₂ und bei 37 °C inkubiert.

D.1.6. Wirkstoff-Proliferations-Assays gegen *P. falciparum*

D.1.6.1. SYBR Green-Fluoreszenz-Assay

Zu testende Verbindungen wurden zunächst in DMSO gelöst und daraufhin mit dem beschriebenen Substrat verdünnt. Kulturen von *P. falciparum* (Dd2 Stamm), die sich überwiegend im frühen Trophozoitenstadium (Ringform) befanden, wurden synchronisiert. Hierfür wurde der Überstand der Kultur entfernt, die Zellen in 8 ml einer Sorbitollösung resuspendiert und 5 min bei 37 °C gelagert. Anschließend wurde nach Zentrifugieren der Überstand verworfen, die Zellen in Substrat resuspendiert und 1 h inkubiert. In die Vertiefungen einer 96-well Mikrotiterplatte (*Greiner*) wurden jeweils in 100 µl Endvolumen infizierte Erythrozyten mit verschiedenen Konzentrationen eines Wirkstoffes für 72 h inkubiert. Jeder Wirkstoff wurde in einem Versuch in acht verschiedenen Konzentrationen als Doppelbestimmung getestet. Chloroquin wurde in jedem Versuch als Referenz verwendet. Nach dieser Zeitperiode wurden in jede Vertiefung der Mikrotiterplatten 100 µl Lysepuffer (40 mM Tris, 10 mM EDTA, 0,016 % Saponin, 0,08 % Triton X-100, pH = 7,5) zusammen mit 8,3 µM SYBR Green I zugegeben. Der Inhalt jeder Vertiefung wurde durchmischt und für 1 h unter Lichtausschluss bei RT inkubiert. Die Fluoreszenz bei 520 nm (Exzitation bei 485 nm) wurde durch den automatischen Mikrotiterplatten-Reader FLUOstar (*BMG Labtech*) gemessen. IC₅₀-Werte wurden durch die Hill-Funktion des Programms SigmaPlot 11^[465] berechnet. Der verwendete *Plasmodium falciparum* Dd2 Stamm war moderat resistent gegen Chloroquin (IC₅₀ = 110 nM).

D.1.6.2. LDH-Assay

Die Testsubstanzen wurden zunächst in DMSO gelöst und mit dem zur Kultur verwendeten Substrat verdünnt. Der Proliferationsassay wurde in 96-well-Mikrotiterplatten (*Nunc*) jeweils als Doppelbestimmung durchgeführt. Die Quantifizierung des Parasitenwachstums erfolgte über Aktivitätsmessung der plasmodialen Laktatdehydrogenase (LDH). Hierfür wurden 50 µl der resuspendierten Kultur auf eine weitere 96-well-Mikrotiterplatten transferiert und mit 100 µl eines LDH-Substrats versetzt. Als Substratlösung wurde 100 mM Tris-HCl (pH = 8,0), 40,0 mM Natrium-(L)-laktat, 2,5 % Triton X-100, 0,20 mg/ml Nitroblau-Tetrazolium, 0,05 mg/ml 3-Acetylpyridin-Adenin-Dinukleotid (Sigma), 1 IU/ml Diaphorase aus *Clostridium klyveri* verwendet. Die Umsetzung dieses Substrats wurde durch die Reduktion einer

Tetrazoliumverbindung zum Formazanderivat gemessen. Hierzu wurde die Absorption photometrisch bei $\lambda = 650$ nm bestimmt

D.1.7. Biologische Testung der Zytotoxizität der Substanzen

Die Zytotoxizität der Verbindungen wurde durch H.-M. DAHSE vom Leibniz-Institut für Naturstoff- Forschung und Infektionsbiologie e. V. - Hans-Knöll-Institut an der HeLa Zelllinie DSMZ ACC 57 bestimmt. Hierzu wurden die Zellen zunächst 48 h auf 96-Well-Mikrotiterplatten vorinkubiert. Danach wurden die Testsubstanzen in verschiedenen Verdünnungen aufgetragen und für weitere 72 h inkubiert (37 °C, 5 % CO₂). Anschließend erfolgte eine Fixierung der HeLa-Zellen mit 25 % Glutaraldehyd-Lösung und Einfärbung mit einer 0,05 %igen Methylenblaulösung. Die Zellen wurden mit 0,2 ml 0,33 N Salzsäure pro Vertiefung suspendiert und die optische Dichte bei einer Wellenlänge von 660 nm gemessen. Die Auswertung erfolgte mit dem Programm Magellan.^[466]

D.1.8. Zellkultur von HT-22 Zellen

Wie zuvor beschrieben^[388,467] wurden HT-22 Zellen bei 37 °C und 5 % CO₂ in *Dulbecco's minimal essential medium* (DMEM) kultiviert. Dem Medium wurden 10 % Hitze-inaktiviertes fötales Kälberserum, 100 U/ml Penicillin, 100 µg/ml Streptomycin und 2 mM Glutamin (*In-vitrogen*) zugesetzt. Die Zellen wurden in 96-Well-Mikrotiterplatten kultiviert.

D.1.9. MTT-Assay mit HT-22 Zellen

Der MTT-Assay wurde in 96-Well-Mikrotiterplatten durchgeführt. 24 h nach dem Einbringen der HT-22 Zellen in die Vertiefungen wurde Glutamat (*Sigma Aldrich*) in zytotoxisch wirkenden Konzentrationen von 3 und 4 mM zu den Zellen gegeben. Die zu testenden Wirkstoffe wurden in DMSO oder H₂O gelöst und in den Endkonzentrationen von 1, 10, 25, 50 und 100 µM zu den Zellen gegeben. Nach 15 h wurden 10 µl einer 2-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-3,5-diphenyl-2*H*-tetrazol-3-iumbromid (MTT, *Sigma Aldrich*) -Lösung (5 mg/ml) hinzugegeben, um die metabolische Aktivität der Zellen zu bestimmen. Die Zellen wurden für 1,5 h bei 37 °C inkubiert, anschließend wurde das Medium entfernt und die Platten wurden bei -80 °C für mindestens 1 h eingefroren. Danach wurden 100 µl DMSO hinzugefügt und es wurde 30 min bei 37 °C inkubiert. Die Absorption der Testlösungen bei $\lambda = 590$ nm und einer Referenz von $\lambda = 630$ nm wurde mit dem Spektrophotometer Spectrafluor Plus von *Tecan* gemes-

sen und die Zellviabilität wurde in Prozent der Absorption einer unbehandelten Probe (100%) dargestellt.

D.2. Computergestützte Methoden

D.2.1. Kombinatorische *virtual library*

Die kombinatorische *virtual library* wurde mit dem Programm Colibri^[468] von S. GLINCA erstellt. Vor dem *docking* wurde das Programm MOE^[281] verwendet, um Liganden mit dem Kraftfeld MMFF94x energetisch zu minimieren und Wasserstoffatome zu ergänzen.

D.2.2. *Docking*

Zum *docking* wurde von S. GLINCA das Programm GOLD^[273] verwendet. AS in einem Abstand von 7 Å zum jeweiligen ko-kristallisierten Liganden bzw. Inhibitor wurden als Bindetasche definiert. Hierbei wurde für die Einstellung des Genetischen Algorithmus (GA) 30 % gewählt, was zur automatischen Anpassung weiterer Parameter führt. Es wurden 30 unabhängige Durchläufe (*GA runs*) pro Ligand durchgeführt. Als *scoring*-Funktion wurde Astex Statistical Potential (ASP)^[469] verwendet. Das *docking* kleinerer Bibliotheken erfolgte mit der Einstellung 50 % für den GA. Ein neues *ranking* wurde für die Ergebnisse des *dockings* mit dem Programm DSX^[470] erstellt.

D.3. Methoden in der Synthese

D.3.1. Allgemeine Angaben zu Geräten und Arbeitstechniken

Verwendete Chemikalien wurden von den Firmen *abcr*, *Thermo Fisher Scientific*, *Fluorochem*, *Matrix Scientific*, *Merck*, *Alfa Aesar* und *Sigma-Aldrich* bezogen und ohne weitere Reinigung verwendet oder, falls erforderlich, durch Umkristallisation gereinigt.

Verwendete Lösungsmittel wurden vor Gebrauch destilliert, wenn sie nicht der Reinheitsklasse „p. a.“ entsprachen und, falls erforderlich, nach Standardverfahren getrocknet.^[471]

Unter **Inertgasbedingungen** erfolgte die Zugabe von feuchtigkeitsempfindlichen Reagenzien mittels Spritzen über Septen. Als Inertgas diente Argon in handelsüblicher Qualität.

Angaben zur Ausbeute beziehen sich auf die chromatographisch gereinigten und/oder umkristallisierten Produkte.

Zur **Dünnschichtchromatographie** wurden DC-Aluminiumfolien „Kieselgel 60 F254“ der Firma *Merck* verwendet. Die Signaldetektion erfolgte über Fluoreszenzlöschung bei $\lambda = 254$ nm und 365 nm.

Zur **Säulenchromatographie** wurde als Sorbens MN Kieselgel 60 mit Korngröße 0,040-0,063 mm der Firma *Macherey-Nagel* verwendet. Die jeweils eingesetzten Eluenten finden sich in der Versuchsbeschreibung der einzelnen Verbindungen. Bei den angegebenen Mischungsverhältnissen handelt es sich um Volumenanteile.

Schmelzpunkte wurden mit einer MEL-TEMP-II-Schmelzpunktapparatur der Firma *Barnstead Thermolyne Corporation* gemessen und sind nicht korrigiert.

NMR-Spektren wurden mit den Geräten *Jeol* ECA-500 ($\nu = 500$ MHz für ^1H bzw. $\nu = 125$ MHz für ^{13}C), *Jeol* EX-400 ($\nu = 400$ MHz für ^1H bzw. $\nu = 100$ MHz für ^{13}C) aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen δ sind in ppm relativ zu Tetramethylsilan (= 0 ppm) angegeben. Als interne Standards der ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren dienen die Signale der undeuterten Lösungsmittelanteile:

Lösungsmittel	CDCl_3	$\text{C}_2\text{HF}_3\text{O}_2$	$(\text{CD}_3)_2\text{SO}$	D_2O
δ [ppm] ^1H	7,26	11,50	2,50	4,79
δ [ppm] ^{13}C	77,2	116,6; 164,2	39,4	

Zur Charakterisierung der Multiplizitäten der Signale wurden folgende Abkürzungen verwendet: br = breites Signal; ps = pseudo-; AB = Zweispinsystem von Typ AB mit kleiner Ver-

schiebungsdifferenz der Protonen H_A und H_B im Vergleich zur Kopplungskonstanten. Angegeben ist die gemeinsame Kopplungskonstante J_{AB} ; s = Singulett; d = Dublett; dd = Dublett vom Dublett; t = Triplett; tt = Triplett vom Triplett; td = Triplett vom Dublett; qd = Quadruplett vom Dublett; q = Quadruplett; p = Quintett; m = Multiplett.

Die Kopplungskonstanten J sind in Hz angegeben. Die Auswertung der Spektren erfolgte mit dem Programm Delta NMR Processing and Control Software für Windows v5.0 der Firma *Jeol USA Inc.*

Massenspektren wurden als Elektronenstoß-Ionisationsspektren (EI-MS-Spektren) auf einem *Varian MAT CH7a* und *S.I.S VG 7070* bei einer Anregungsenergie von 70 eV gemessen.

Zur Aufnahme von Elektrospray-Ionisationsspektren (ESI-MS-Spektren) wurde ein doppelfokussierendes Sektorfeld-Massenspektrometer vom Typ VG-AutoSpec von *Micromass* und die Quadrupol-Ionenfallen Massenspektrometer Q-trap 2000 von *Applied Biosystems* und EP 10 von *MS Vision* verwendet. Falls vorhanden, sind jeweils das Molekülion $[M]^+$, das Molekülion mit angelagertem H-Atom $[M+H]^+$ oder angelagertem Metallatom $[M+Me]^+$, das Molekülion der korrespondierenden freien Base $[M(\text{Base})]$ und die Bruchstücke (m/z = Masse/Ladungsverhältnis) mit der höchsten relativen Intensität angegeben. Isotope (I) wurden ihrer Massenzahl (A) entsprechend gekennzeichnet $[M(^A\text{I})]$. Die detektierten Ionenmassen sind als Masse/Ladungs-Verhältnis (m/z) in u angegeben, die Angabe der Signalintensitäten erfolgt in Prozent bezogen auf das intensivste Signal. Die angegebenen Werte sind auf die erste Stelle vor dem Komma gerundet.

Hochaufgelöste Massenspektren (HRMS) wurden bei der Elektronenstoß-Ionisation (HRMS-EI-Spektren) mit einer Anregungsenergie von 70 eV durchgeführt. Für die Aufnahme von hochaufgelösten EI- und ESI-Massenspektren wurde das VG-AutoSpec Massenspektrometer der Firma *Micromass* verwendet. Die für ein Molekül berechneten und detektierten Ionenmassen wurden auf vier Nachkommastellen gerundet und mit der entsprechenden Summenformel angegeben.

Infrarotspektren wurden am ATR-FT-IR-Spektrometer Alpha-P der Firma *Bruker* aufgenommen. Die Verbindungen wurden als Reinsubstanzen vermessen. Für Signale charakteristischer Absorptionsmaxima wurden die entsprechenden Wellenzahlen (cm^{-1}) angegeben. Die Amplitudenhöhe der einzelnen Signale wurde durch folgende Abkürzungen charakterisiert: (s) hohe Amplitude; (m) mittlere Amplitude; (w) niedrige Amplitude.

D.3.2. Allgemeine Arbeitsvorschriften zur Synthese

AAV1: Darstellung von *N*-arylsubstituierten Thiazolidin-2,4-dionen

Die Reaktion wird unter Inertgas durchgeführt. Eine auf 0 °C gekühlte Lösung von CDI (1,1 Äq.) in absol. DCM wird mit dem entsprechenden Arylaminoderivat (1,1 Äq.) und Thio-glykolsäuremethylester (1,0 Äq.) versetzt. Es wird 3 Tage gerührt und schließlich dreimal mit 3 M HCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet und das LM entfernt. Der entstandene FS wird aus einem geeigneten LM umkristallisiert oder durch SC gereinigt.^[472]

AAV2: Kondensation von Thiazolidin-2,4-dionen mit Aldehyden

Eine Lösung des entsprechenden Aldehyd- (1,0 Äq.) und des Thiazolidin-2,4-dionderivats (1,0 Äq.) in Methanol wird mit Ethylendiammoniumdiacetat (20 mg pro mmol des Thiazolidinderivats) versetzt und 10 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt.^[298]

AAV3: Spaltung von Ethern

Die Reaktion wird unter Inertgas durchgeführt. Eine auf -80 °C gekühlte Lösung des entsprechenden Etherderivats (1,0 Äq.) in absol. DCM wird mit BBr₃ (3,0 Äq. pro Etherfunktion) versetzt. Es wird 2 h gerührt und dabei auf RT erwärmt. Anschließend wird mit wenig H₂O gequencht, und der entstandene FS wird abgetrennt.

AAV4: Darstellung von Carbonsäurechloriden

Die Reaktion wird unter Inertgas durchgeführt.

- a) Eine Lösung des entsprechenden Carbonsäurederivats (1,0 Äq.) in DCM wird mit Oxalylchlorid (1,5 Äq.) und 2 Tropfen DMF versetzt und 1 h bei RT gerührt. Das LM wird entfernt.
- b) Eine Suspension des entsprechenden Carbonsäurederivats (1,0 Äq.) in Toluol wird mit Oxalylchlorid (1,5 Äq.) und 2 Tropfen DMF versetzt und bis 2 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Das LM wird entfernt.

AAV5: Darstellung von Carbonsäureamiden aus den entsprechenden Carbonsäurechloriden

Die Reaktion wird unter Inertgas durchgeführt. Eine auf 0 °C gekühlte Lösung oder Suspension des entsprechenden Aminoderivats oder seines Hydrochlorids (1,0 Äq.) in THF wird mit dem entsprechenden Carbonsäurechlorid (1,0 Äq.) und Triethylamin (1,0 Äq.; 2,0 Äq. bei

Verwendung des Amins als Hydrochlorid) versetzt. Es wird 2 h bei RT gerührt und schließlich

- a) mit dem zehnfachen Volumen H_2O versetzt. Der entstandene FS wird abgetrennt und aus einem geeigneten LM umkristallisiert.
- b) mit dem doppelten Volumen an Diethylether versetzt. Die organische Phase wird jeweils zweimal mit 2 M HCl- und 2 M NaOH-Lösung gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Das LM wird entfernt und der Rückstand durch SC gereinigt.
- c) das LM entfernt und der Rückstand aus einem geeigneten LM umkristallisiert oder durch SC gereinigt.

AAV6: Darstellung von Carbonsäureamiden mit Kupplungsreagenzien

Die Reaktion wird unter Inertgas durchgeführt. Eine auf 0 °C gekühlte Lösung oder Suspension des entsprechenden Aminoderivats (1,0 Äq.) und der entsprechenden Carbonsäure in DCM wird mit EDC (1,2 Äq.) und HOBt (1,2 Äq.) versetzt. Es wird 12 h bei RT gerührt und schließlich jeweils dreimal mit 1 M HCl- und 1 M NaOH-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über MgSO_4 getrocknet, und das LM wird entfernt.

AAV7: Reduktion von aromatischen Nitrogruppen

Eine Lösung oder Suspension des entsprechenden Nitroderivats (1,0 Äq.) und $\text{SnCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (5,0 Äq.) in EtOAc wird 3 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Schließlich wird pH = 8 eingestellt, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet, das LM wird entfernt und der Rückstand aus einem geeigneten LM zur Kristallisation gebracht oder umkristallisiert.

AAV8: Reduktion von Nitrilen zu primären Aminen

Die Reaktion wird unter Inertgas durchgeführt. Eine auf 0 °C gekühlte Lösung des entsprechenden Nitrilderivats (1,0 Äq.) in Et_2O wird mit einer 4 M Lösung von LiAlH_4 (0,5 Äq.) in Et_2O versetzt und 2 h bei RT gerührt. Schließlich wird auf 0 °C gekühlt, mit H_2O gequenchet und die wässrige Phase abgetrennt. Die organische Phase wird über MgSO_4 getrocknet, auf ca. 20 ml eingeeengt und auf 0 °C gekühlt. Es wird mit ausreichend 2 M Lösung von HCl in Et_2O versetzt, bis eine weitere Fällung ausbleibt. Der entstandene FS wird abgetrennt.

AAV9: Abspaltung von Boc-Schutzgruppen

Das entsprechende Boc-geschützte Derivat wird in einer 4 M Lösung von HCl in Dioxan 2 h bei RT gerührt.

- a) Der entstandene FS wird abgetrennt und mit Et₂O (zweimal 2 ml) gewaschen.
- b) Der entstandene FS wird abgetrennt, mit einer 1 M NaOH-Lösung versetzt und dreimal mit Et₂O extrahiert. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, und das LM wird entfernt.

AAV10: Darstellung von Phenylethern

Die Reaktion wird unter Inertgas durchgeführt. Eine Suspension des entsprechenden Phenolderivats (1,0 Äq.), K₂CO₃ (2,0 Äq.), KI (5 mg pro mmol des Phenolderivats) und des entsprechenden Alkylhalogenids (1,0 Äq.) in 2-Butanon wird 6 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Es wird mit dem gleichen Volumen einer 1 M NaOH-Lösung versetzt und mit dem doppelten Volumen Et₂O extrahiert. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet und das LM entfernt.

AAV11: Alkylierung von Aminen mit Alkylhalogeniden

- a) Eine Lösung oder Suspension des entsprechenden Aminoderivats oder seines Hydrochlorids (1,0 Äq.), K₂CO₃ (1,0 Äq.; 2,0 Äq. bei Verwendung des Amins als Hydrochlorid) und des entsprechenden Alkylhalogenids (1,1 Äq.) in Aceton wird 24 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Anschließend wird mit dem zehnfachen Volumen H₂O versetzt, der entstandene FS wird abgetrennt und aus einem geeigneten LM umkristallisiert.
- b) Eine Lösung oder Suspension des entsprechenden Aminoderivats oder seines Hydrochlorids (1,0 Äq.), K₂CO₃ (1,0 Äq.; 2,0 Äq. bei Verwendung des Amins als Hydrochlorid) und des entsprechenden Alkylbromids (1,0 Äq.) in Aceton wird 3 h bei RT gerührt. Schließlich wird mit dem zehnfachen Volumen H₂O versetzt, der entstandene FS wird abgetrennt und aus einem geeigneten LM umkristallisiert.

AAV12: Darstellung von Iminen und Hydrazonen

Eine Lösung des entsprechenden Amino- oder Hydrazinderivats und des entsprechenden Aldehydderivats in Methanol wird 3 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Es wird mit dem gleichen Volumen H₂O versetzt, auf 0 °C gekühlt, der entstandene FS wird abgetrennt und aus einem geeigneten LM umkristallisiert.

AAV13: Reduktion von Iminen zu Aminen

Eine Lösung des entsprechenden Iminoderivats (1,0 Äq.), NaBH_3CN (2,0 Äq.) und Eisessig (3,0 Äq.) in DCE wird 3 h bei 50 °C gerührt. Es wird mit einer gesättigten Na_2CO_3 -Lösung gewaschen, die organische Phase wird über MgSO_4 getrocknet und das LM entfernt. Der Rückstand wird durch SC gereinigt.

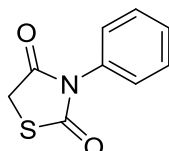
AAV14: Hydrolyse von Estern

Eine Lösung des Esterderivats in Eisessig (25 ml) wird mit einer 32 %igen HCl Lösung (1,00 ml) versetzt und 30 min unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Schließlich wird mit dem zehnfachen Volumen H_2O versetzt, der entstandene FS wird abgetrennt und aus einem geeigneten LM umkristallisiert.

D.4. Verbindungsdaten

D.4.1. 3-substituierte Thiazolidin-2,4-dionderivate

3-Phenylthiazolidin-2,4-dion (142) SCHL-24292



C₉H₇NO₂S
(193,22 g/mol)

Gemäß **AAV1** aus Anilin (0,56 ml; 6,17 mmol), CDI (1,00 g; 6,17 mmol) und Thioglykolsäuremethylester (0,50 ml; 5,61 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (856 mg; 4,43 mmol; 79 %)

Smp.: 202 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 4,31 (s; 2H; CH₂); 7,29-7,32 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,46 (m; 3H; Aryl-*H*)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 34,1 (CH₂); 127,7 (2x Aryl-CH); 128,6 (Aryl-CH); 129,0 (2x Aryl-CH); 133,3 (Aryl-C); 171,2 (CON); 171,7 (CON)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3271 (w); 3060 (w); 2978 (w); 1649 (m); 1496 (m); 1362 (m); 1196 (m); 1149 (m); 693 (s); 544 (m)

MS (EI; 70 eV; 100 °C)

m/z (%): 93 (100); 212 (35)

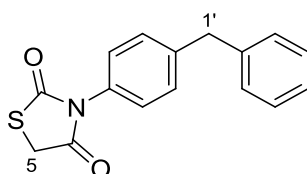
MS (EI; 70 eV; RT)

m/z (%): 119 (73); 193 [M]⁺ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₉H₇NO₂S: 193,0198; gefunden: 193,0206 [M]⁺

3-(4-Benzylphenyl)thiazolidin-2,4-dion (197) SCHL-24387



C₁₆H₁₃NO₂S
(283,34 g/mol)

Gemäß **AAV1** aus 4-Benzylanilin (1,13 g; 6,17 mmol), CDI (1,00 g; 6,17 mmol) und Thioglykolsäuremethylester (0,50 ml; 5,61 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (1,35 g; 4,76 mmol; 85 %)

Smp.: 107 °C (Zers.)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 3,99 (s; 2H; *H*-1'); 4,29 (s; 2H; *H*-5); 7,18-7,22 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,26-7,37 (m; 6H; Aryl-*H*)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 34,2 (*C*-5); 40,6 (*C*-1'); 126,1 (Aryl-*C*); 127,8 (2x Aryl-CH); 128,5 (2x Aryl-CH); 128,7 (2x Aryl-CH); 129,2 (2x Aryl-CH); 131,2 (Aryl-CH); 140,7 (Aryl-*C*); 142,2 (Aryl-*C*); 171,4 (CON); 171,9 (CON)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3024 (w); 2980 (w); 2900 (w); 1759 (m); 1672 (s); 1512 (m); 1376 (s); 1152 (s); 736 (s); 696 (s)

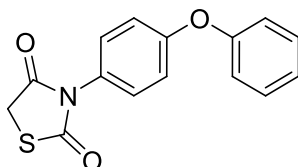
MS (EI)

m/z (%): 167 (29); 209 (45); 283 [M]⁺ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₆H₁₃NO₂S: 283,0667; gefunden: 283,0654 [M]⁺

3-(4-Phenoxyphenyl)thiazolidin-2,4-dion (195) SCHL-24270



C₁₅H₁₁NO₃S
(285,32 g/mol)

Gemäß **AAV1** aus 4-Phenoxyanilin (1,14 g; 6,17 mmol), CDI (1,00 g; 6,17 mmol) und Thioglykolsäuremethylester (0,50 ml; 5,61 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (1,54 g; 5,38 mmol; 96 %)

Smp.: 139 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 4,30 (s; 2H; CH₂); 7,07-7,10 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,18-7,22 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,29-7,33 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,41-7,47 (m; 2H; Aryl-*H*)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 34,1 (CH₂); 118,2 (2x Aryl-CH); 119,3 (2x Aryl-CH); 124,1 (Aryl-CH); 128,0 (Aryl-*C*); 129,5 (2x Aryl-CH); 130,1 (2x Aryl-CH); 155,7 (Aryl-*C*); 157,1 (Aryl-*C*); 171,3 (CON); 171,8 (CON)

IR (ATR)

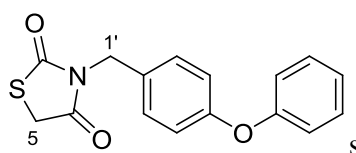
ν (cm⁻¹): 3065 (w); 2982 (w); 1760 (w); 1677 (s); 1588 (m); 1487 (m); 1249 (m); 1154 (m); 749 (m); 540 (m)

MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 197 (21); 211 (98); 285 [M]⁺ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₅H₁₁NO₃S: 285,0460; gefunden: 285,0452 [M]⁺

3-(4-Benzylphenyl)thiazolidin-2,4-dion (196) SCHL-24363


C₁₆H₁₃NO₃S
(299,34 g/mol)

Gemäß **AAV1** aus 4-Phenoxybenzylamin (1,10 ml; 6,17 mmol), CDI (1,00 g; 6,17 mmol) und Thioglykolsäuremethylester (0,50 ml; 5,61 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (430 mg; 1,44 mmol; 23 %)

Smp.: 94 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

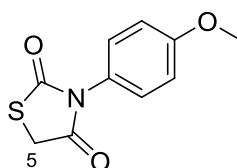
δ_H (ppm): 4,27 (s; 2H; *H*-5); 4,65 (s; 2H; *H*-1'); 6,95-7,01 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,12-7,16 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,28-7,31 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,36-7,41 (m; 2H; Aryl-*H*)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 34,0 (*C*-5); 43,7 (*C*-1'); 118,5 (2x Aryl-CH); 118,6 (2x Aryl-CH); 123,5 (Aryl-C); 129,6 (2x Aryl-CH); 130,0 (2x Aryl-CH); 130,6 (Aryl-CH); 156,2 (Aryl-C); 156,4 (Aryl-C); 171,9 (CON); 171,3 (CON)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3056 (w); 2994 (w); 2937 (w); 1745 (m); 1658 (s); 1487 (m); 1340 (m); 1239 (m); 1157 (m); 975 (m); 693 (m)

3-(4-Methoxyphenyl)thiazolidin-2,4-dion (198) SCHL-24386


C₁₀H₉NO₃S
(223,25 g/mol)

Gemäß **AAV1** aus 4-Methoxyanilin (0,76 g; 6,17 mmol), CDI (1,00 g; 6,17 mmol) und Thioglykolsäuremethylester (0,50 ml; 5,61 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (1,02 g; 4,76 mmol; 74 %)

Smp.: 166 °C (Zers.)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 3,79 (s; 3H; CH₃); 4,28 (s; 2H; H-5); 7,03-7,05 (m; 2H; Aryl-H); 7,20-7,22 (m; 2H; Aryl-H)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 34,1 (CH₃); 55,3 (C-5); 114,3 (2x Aryl-CH); 125,8 (Aryl-C); 129,0 (2x Aryl-CH); 159,3 (Aryl-C); 171,5 (CON); 172,0 (CON)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3073 (w); 2973 (w); 2844 (w); 1758 (w); 1669 (s); 1515 (s); 1369 (m); 1252 (m); 1151 (s); 1022 (m); 822 (s)

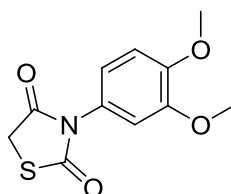
MS (EI)

m/z (%): 134 (24); 149 (79); 223 [M]⁺ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₆H₁₃NO₂S: 223,0303; gefunden: 223,0296 [M]⁺

3-(3,4-Dimethoxyphenyl)thiazolidin-2,4-dion (247) SCHL-24213



C₁₁H₁₁NO₄S
(253,27 g/mol)

Gemäß **AAV1** aus 3,4-Dimethoxyanilin (945 mg; 6,17 mmol), CDI (1,00 g; 6,17 mmol) und Thioglykolsäuremethylester (0,50 ml; 5,61 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

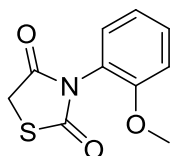
Weißer FS (865 mg; 3,42 mmol; 63 %)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 3,73 (s; 3H; CH₃); 3,79 (s; 3H; CH₃); 4,28 (s; 2H; CH₂); 6,81-6,83 (m; 1H; Aryl-H); 6,92-6,93 (m; 1H; Aryl-H); 7,04-7,06 (m; 1H; Aryl-H)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 34,7 (CH₂); 55,7 (2x CH₃); 115,8 (Aryl-CH); 115,9 (Aryl-CH); 121,9 (Aryl-CH); 134,3 (Aryl-C); 149,0 (Aryl-C); 151,0 (Aryl-C); 165,0 (CON); 166,2 (CON)

3-(2-Methoxyphenyl)thiazolidin-2,4-dion (248) SCHL-24234

$C_{10}H_9NO_3S$
(223,25 g/mol)

Gemäß **AAV1** aus 2-Methoxyanilin (759 mg; 6,17 mmol), CDI (1,00 g; 6,17 mmol) und Thioglykolsäuremethylester (0,50 ml; 5,61 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

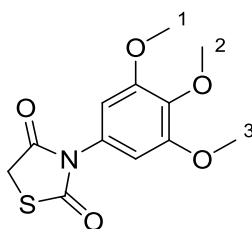
Weißer FS (1,05 g; 4,71 mmol; 84 %)

1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_H (ppm): 3,72 (s; 3H; CH_3); 4,40 und 4,30 (AB; $J_{AB} = 17,6$ Hz; 2H; CH_2); 7,00-7,04 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,15-7,23 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,42-7,46 (m; 1H; Aryl-*H*)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_C (ppm): 34,0 (CH_2); 55,8 (CH_3); 112,4 (Aryl-CH); 120,6 (Aryl-CH); 121,6 (Aryl-C); 129,7 (Aryl-CH); 131,0 (Aryl-CH); 154,7 (Aryl-C); 170,8 (CON); 171,0 (CON)

3-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)thiazolidin-2,4-dion (249) SCHL-24232

$C_{12}H_{13}NO_5S$
(283,30 g/mol)

Gemäß **AAV1** aus 3,4,5-Trimethoxyanilin (1,13 g; 6,17 mmol), CDI (1,00 g; 6,17 mmol) und Thioglykolsäuremethylester (0,50 ml; 5,61 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(EtOAc, Isohexan; 4:1)

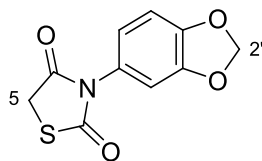
Weißer FS (762 mg; 2,69 mmol; 48 %)

1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_H (ppm): 3,70 (s; 3H; *H*-2); 3,74 (s; 6H; *H*-1; *H*-3); 4,28 (s; 2H; CH_2); 6,68 (s; 2H; Aryl-*H*)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_C (ppm): 34,1 (CH_2); 56,0 (*C*-1; *C*-3); 60,0 (*C*-2); 105,8 (2x Aryl-CH); 129,0 (Aryl-C); 137,7 (Aryl-C); 153,0 (2x Aryl-C); 171,3 (CON); 171,7 (CON)

3-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)thiazolidin-2,4-dion (250) SCHL-24247

$C_{10}H_7NO_4S$
(237,23 g/mol)

Gemäß **AAV1** aus Benzodioxol-5-amin (846 mg; 6,17 mmol), CDI (1,00 g; 6,17 mmol) und Thioglykolsäuremethylester (0,50 ml; 5,61 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(EtOAc, Isohexan; 4:1)

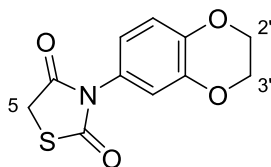
Weißer FS (1,12 g; 4,71 mmol; 84 %)

1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_H (ppm): 4,26 (s; 2H; *H*-5); 6,10 (s; 2H; *H*-2'); 6,75-6,78 (m; 1H; Aryl-*H*); 6,90-6,91 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,00-7,03 (m; 1H; Aryl-*H*)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_C (ppm): 34,1 (*C*-5); 101,8 (*C*-2'); 108,2 (Aryl-CH); 108,7 (Aryl-CH); 121,7 (Aryl-CH); 126,8 (Aryl-C); 147,5 (Aryl-C); 147,5 (Aryl-C); 171,4 (CON); 171,9 (CON)

3-(2,3-Dihydrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-yl)thiazolidin-2,4-dion (251) SCHL-24282

$C_{11}H_9NO_4S$
(251,26 g/mol)

Gemäß **AAV1** aus 2,3-Dihydrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-amin (932 mg; 6,17 mmol), CDI (1,00 g; 6,17 mmol) und Thioglykolsäuremethylester (0,50 ml; 5,61 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

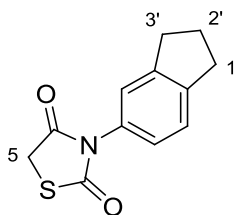
Weißer FS (1,24 g; 4,93 mmol; 88 %)

1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_H (ppm): 4,25 (s; 2H; *H*-5); 4,27 (s; 4H; *H*-2'; *H*-3'); 6,73-6,76 (m; 1H; Aryl-*H*); 6,83-6,84 (m; 1H; Aryl-*H*); 6,94-6,96 (m; 1H; Aryl-*H*)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_C (ppm): 34,0 (*C*-5); 64,0 (*C*-2'; *C*-3'); 116,7 (Aryl-CH); 117,1 (Aryl-CH); 120,7 (Aryl-CH); 126,1 (Aryl-C); 143,2 (Aryl-C); 143,7 (Aryl-C); 171,3 (CON); 171,8 (CON)

3-(Indan-5-yl)thiazolidin-2,4-dion (252) SCHL-24308

C₁₂H₁₁NO₂S
(233,29 g/mol)

Gemäß **AAV1** aus Indan-5-amin (805 mg; 6,17 mmol), CDI (1,00 g; 6,17 mmol) und Thioglykolsäuremethylester (0,50 ml; 5,61 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

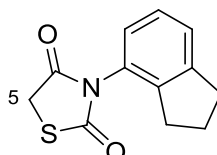
Weißer FS (719 mg; 3,08 mmol; 55 %)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,05 (p; *J* = 7,5 Hz; 2H; *H*-2'); 2,87-2,91 (m; 4H; *H*-1'; *H*-3'); 4,29 (s; 2H; *H*-5); 7,00-7,03 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,12-7,13 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,32-7,34 (m; 1H; Aryl-*H*)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 25,1 (Indan-CH₂); 31,9 (Indan-CH₂); 32,1 (Indan-CH₂); 34,0 (*C*-5); 123,6 (Aryl-CH); 124,5 (Aryl-CH); 125,5 (Aryl-CH); 131,3 (Aryl-C); 144,7 (Aryl-C); 144,7 (Aryl-C); 171,4 (CON); 171,9 (CON)

3-(Indan-4-yl)thiazolidin-2,4-dion (253) SCHL-24260

C₁₂H₁₁NO₂S
(233,29 g/mol)

Gemäß **AAV1** aus 4-Aminoindan (821 mg; 6,17 mmol), CDI (1,00 g; 6,17 mmol) und Thioglykolsäuremethylester (0,50 ml; 5,61 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(EtOAc, Isohexan; 4:1)

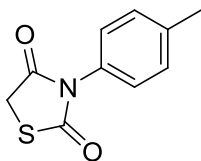
Weißer FS (445 mg; 1,91 mmol; 34 %)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,96-2,04 (m; 2H; Indan-CH₂); 2,64-2,69 (m; 2H; Indan-CH₂); 2,94 (t; *J* = 7,4 Hz; 2H; Indan-CH₂); 4,42 und 4,32 (AB; *J*_{AB} = 17,4 Hz; 2H; *H*-5); 7,03-7,05 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,24-7,34 (m; 2H; Aryl-*H*)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 24,3 (Indan-CH₂); 29,9 (Indan-CH₂); 32,4 (Indan-CH₂); 34,2 (*C*-5); 125,0 (Aryl-CH); 125,6 (Aryl-CH); 127,0 (Aryl-CH); 129,5 (Aryl-C); 141,8 (Aryl-C); 145,7 (Aryl-C); 170,8 (CON); 171,1 (CON)

3-*p*-Tolylthiazolidin-2,4-dion (254) SCHL-24258

$C_{10}H_9NO_2S$
(207,25 g/mol)

Gemäß **AAV1** aus *p*-Toluidin (661 mg; 6,17 mmol), CDI (1,00 g; 6,17 mmol) und Thioglykolsäuremethylester (0,50 ml; 5,61 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

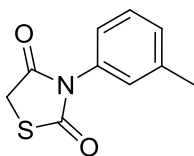
Weißer FS (860 mg; 4,15 mmol; 69 %)

1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,35 (s; 3H; CH_3); 4,29 (s; 2H; CH_2); 7,16-7,18 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,29-7,31 (m; 2H; Aryl-*H*)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_C (ppm): 20,6 (CH_3); 34,1 (CH_2); 127,5 (2x Aryl-CH); 129,5 (2x Aryl-CH); 130,7 (Aryl-C); 138,4 (Aryl-C); 171,3 (CON); 171,8 (CON)

3-*m*-Tolylthiazolidin-2,4-dion (157) SCHL-24262

$C_{10}H_9NO_2S$
(207,25 g/mol)

Gemäß **AAV1** aus *m*-Toluidin (661 mg; 6,17 mmol), CDI (1,00 g; 6,17 mmol) und Thioglykolsäuremethylester (0,50 ml; 5,61 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(EtOAc, Isohexan; 4:1)

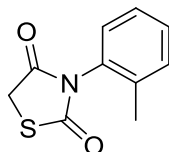
Weißer FS (441 mg; 2,13 mmol; 38 %)

1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,34 (s; 3H; CH_3); 4,30 (s; 2H; CH_2); 7,08-7,11 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,27-7,28 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,37-7,41 (m; 1H; Aryl-*H*)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_C (ppm): 20,6 (CH_3); 34,1 (CH_2); 124,8 (Aryl-CH); 128,1 (Aryl-CH); 128,8 (Aryl-CH); 129,4 (Aryl-CH); 133,2 (Aryl-C); 138,6 (Aryl-C); 171,2 (CON); 171,7 (CON)

3-*o*-Tolylthiazolidin-2,4-dion (158) SCHL-24277

$C_{10}H_9NO_2S$
(207,25 g/mol)

Gemäß **AAV1** aus *o*-Toluidin (661 mg; 6,17 mmol), CDI (1,00 g; 6,17 mmol) und Thioglykolsäuremethylester (0,50 ml; 5,61 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(EtOAc, Isohexan; 4:1)

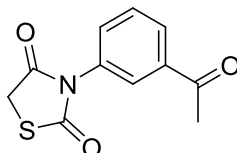
Weißer FS (360 mg; 1,74 mmol; 31 %)

1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,09 (s; 3H; CH_3); 4,33 und 4,47 (AB; $J_{AB} = 17,4$ Hz; 2H; CH_2); 7,22-7,24 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,31-7,34 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,37-7,39 (m; 2H; Aryl-*H*)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_C (ppm): 16,8 (CH_3); 34,3 (CH_2); 126,8 (Aryl-CH); 128,7 (Aryl-CH); 129,4 (Aryl-CH); 130,6 (Aryl-CH); 132,4 (Aryl-C); 135,8 (Aryl-C); 171,1 (CON); 171,4 (CON)

3-(3-Acetylphenyl)thiazolidin-2,4-dion (255) SCHL-24287

$C_{11}H_9NO_3S$
(235,26 g/mol)

Gemäß **AAV1** aus 1-(3-Aminophenyl)ethanon (833 mg; 6,17 mmol), CDI (1,00 g; 6,17 mmol) und Thioglykolsäuremethylester (0,50 ml; 5,61 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(EtOAc, Isohexan; 4:1)

Weißer FS (396 mg; 1,68 mmol; 30 %)

1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

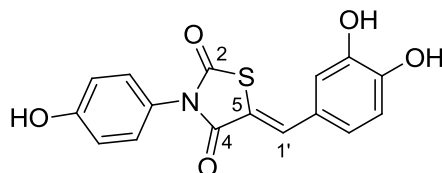
δ_H (ppm): 2,60 (s; 3H; CH_3); 4,32 (s; 2H; CH_2); 7,58-7,70 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,91-7,92 (m; 1H; Aryl-*H*); 8,04-8,07 (m; 1H; Aryl-*H*)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_C (ppm): 26,6 (CH_3); 34,3 (C-5); 127,3 (Aryl-CH); 128,7 (Aryl-CH); 129,5 (Aryl-CH); 132,4 (Aryl-CH); 133,7 (Aryl-C); 137,6 (Aryl-C); 171,2 (NCO); 171,8 (NCO); 196,9 (Acetyl-CO)

D.4.2. 3,5-disubstituierte Thiazolidin-2,4-dionderivate

(Z)-5-(3,4-Dihydroxybenzyliden)-3-(4-hydroxyphenyl)-thiazolidin-2,4-dion (140)
SCHL-24108



$C_{16}H_{11}NO_5S$
(329,33g/mol)

Gemäß **AAV2** aus 3-(4-Hydroxyphenyl)thiazolidin-2,4-dion^{aa} (359 mg; 1,72 mmol), 3,4-Dihydroxybenzaldehyd (237 mg; 1,72 mmol) und Ethylendiammoniumdiacetat (34 mg; 0,19 mmol)

Reinigung: Waschen mit Methanol

Gelber FS (391 mg; 1,05 mmol; 61 %)

Smp.: 320°C (Zers.)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 6,86-6,90 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,01-7,07 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,17-7,19 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,67 (s; 1H; *H*-1'); 9,62 (br s; 2H; 2x Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 116,2 (Aryl-CH); 116,4 (C-5); 118,1 (Aryl-CH); 119,1 (Aryl-CH); 124,0 (2x Aryl-CH); 128,8 (2x Aryl-CH); 128,9 (Aryl-C); 129,9 (Aryl-C); 130,4 (Aryl-C); 133,0 (C-1'); 145,8 (Aryl-C); 148,9 (Aryl-C); 165,2 (C-4); 166,9 (C-2)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3307 (m); 1731 (m); 1671 (m); 1510 (m); 1377 (m); 1188 (m); 1158 (m); 859 (m); 826 (m); 740 (m); 534 (m)

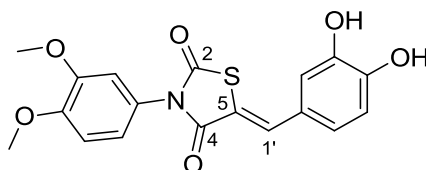
MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 329,0358 [$C_8H_6O_2S$]⁺ (100); 329 [M]⁺ (57)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für $C_{16}H_{11}NO_5S$: 329,0358; gefunden: 329,0352 [M]⁺

(Z)-5-(3,4-Dihydroxybenzyliden)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)thiazolidin-2,4-dion (256)
SCHL-24111



$C_{18}H_{15}NO_6S$
(373,38 g/mol)

^{aa} Synthetisiert von R. MÜLLER

Gemäß **AAV2** aus **SCHL-24213** (325 mg; 1,28 mmol), 3,4-Dihydroxybenzaldehyd (177 mg; 1,28 mmol) und Ethylendiammoniumdiacetat (26 mg; 0,14 mmol)

Reinigung: Waschen mit Methanol

Gelber FS (340 mg; 0,91 mmol; 71 %)

Smp.: 263 °C (Zers.)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 3,74 (s; 3H; CH₃); 3,81 (s; 3H; CH₃); 6,89-6,96 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,02-7,08 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,79 (s; 1H; *H*-1'); 9,68 (br s; 2H; 2x Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 55,6 (2x CH₃); 111,5 (Aryl-CH); 111,8 (Aryl-CH); 116,3 (Aryl-CH); 116,4 (C-5); 116,5 (Aryl-CH); 120,5 (Aryl-CH); 124,2 (Aryl-CH); 124,3 (Aryl-C); 125,7 (Aryl-C); 133,7 (C-1'); 145,9 (Aryl-C); 148,8 (Aryl-C); 148,7 (Aryl-C); 149,1 (Aryl-C); 165,5 (C-4); 167,2 (C-2)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3433 (m); 1739 (w); 1671 (s); 1514 (m); 1229 (m); 1135 (s); 1019 (m); 767 (m); 676 (m); 569 (m)

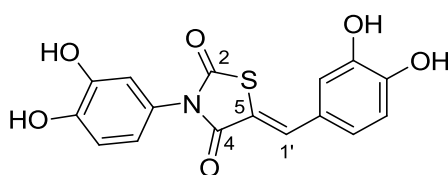
MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 138 (33); 153 (24); 164 (20); 166 [C₈H₆O₂S]⁺ (100); 179 (45); 332 (19); 373 [M]⁺ (59)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₈H₁₅NO₆S: 373,0620; gefunden: 373,0609 [M]⁺

(Z)-5-(3,4-Dihydroxybenzyliden)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)thiazolidin-2,4-dion (141)
SCHL-24112



C₁₆H₁₁NO₆S
(345,33 g/mol)

Gemäß **AAV3** aus **SCHL-24111** (301 mg; 0,81 mmol) und BBr₃ (0,46 ml; 4,84 mmol)

Reinigung: Waschen mit Methanol

Gelber FS (248 mg; 0,72 mmol; 89 %)

Smp.: 315 °C (Zers.)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 6,62-6,64 (m; 1H; Aryl-*H*); 6,74-6,75 (m; 1H; Aryl-*H*); 6,82-6,90 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,02-7,06 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,76 (s; 1H; *H*-1'); 9,39 (br s; 4H; 4x Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 115,3 (Aryl-CH); 115,3 (Aryl-CH); 116,3 (C-5); 116,4 (Aryl-CH); 116,6 (Aryl-CH); 119,0 (Aryl-CH); 124,1 (Aryl-CH); 124,1 (Aryl-C); 124,4 (Aryl-C); 133,6 (C-1'); 145,4 (Aryl-C); 145,9 (Aryl-C); 146,1 (Aryl-C); 148,8 (Aryl-C); 165,6 (C-4); 167,2 (C-2)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3395 (m); 1673 (s); 1583 (s); 1509 (s); 1279 (s); 1137 (s); 807 (s); 774 (m); 676 (s); 523 (s); 465 (s)

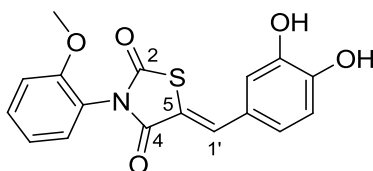
MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 166 [C₈H₆O₂S]⁺ (100); 167 (17); 222 (13); 345 [M]⁺ (99)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₆H₁₁NO₆S: 345,0307; gefunden: 345,0313 [M]⁺

(Z)-5-(3,4-Dihydroxybenzyliden)-3-(2-methoxyphenyl)thiazolidin-2,4-dion (156)
SCHL-24216



C₁₇H₁₃NO₅S
(343,35 g/mol)

Gemäß **AAV2** aus **SCHL-24234** (314 mg; 1,41 mmol), 3,4-Dihydroxybenzaldehyd (194 mg; 1,41 mmol) und Ethylendiammoniumdiacetat (28 mg; 0,16 mmol)

Reinigung: Waschen mit Methanol

Gelber FS (290 mg; 0,84 mmol; 60 %)

Smp.: 270 °C (Zers.)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 3,77 (s; 3H; CH₃); 6,89-6,91 (m; 1H; Aryl-H); 7,03-7,10 (m; 3H; Aryl-H); 7,21-7,23 (m; 1H; Aryl-H); 7,37-7,40 (m; 1H; Aryl-H); 7,48-7,52 (m; 1H; Aryl-H); 7,80 (s; 1H; H-1'); 9,70 (br s; 2H; Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

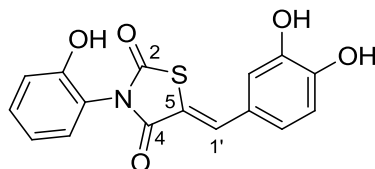
δ_C (ppm): 55,8 (CH₃); 112,4 (Aryl-CH); 116,1 (Aryl-CH); 116,3 (Aryl-CH); 116,5 (C-5); 120,6 (Aryl-CH); 121,4 (Aryl-C); 124,1 (2x Aryl-CH); 129,9 (Aryl-CH); 131,1 (Aryl-C); 134,2 (C-1'); 145,9 (Aryl-C); 148,9 (Aryl-C); 154,7 (Aryl-C); 164,9 (C-4); 166,3 (C-2)

IR (ATR)

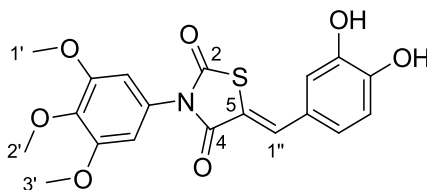
ν (cm⁻¹): 3496 (m); 1744 (m); 1671 (m); 1583 (m); 1368 (m); 1186 (s); 1105 (m); 755 (m); 611 (m); 522 (s)

MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 166 [C₈H₆O₂S]⁺ (100); 343 [M]⁺ (62)

MS (EI-HRMS)m/z berechnet für C₁₇H₁₃NO₅S: 343,0514;gefunden: 343,0500 [M]⁺**(Z)-5-(3,4-Dihydroxybenzyliden)-3-(2-hydroxyphenyl)thiazolidin-2,4-dion (159)
SCHL-24220**C₁₆H₁₁NO₅S
(329,33 g/mol)Gemäß **AAV3** aus **SCHL-24216** (290 mg; 0,85 mmol) und BBr₃ (0,24 ml; 2,54 mmol)Reinigung: Waschen mit H₂O

Gelber FS (231 mg; 0,70 mmol; 83 %)

Smp.: 276 °C (Zers.)**¹H-NMR** (DMSO-d₆; 400 MHz)δ_H (ppm): 6,90-7,09 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,25-7,34 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,79 (s; 1H; *H*-1'); 9,54 (br s; 1H; Aryl-OH); 9,93 (br s; 1H; Aryl-OH); 10,07 (br s; 1H; Aryl-OH)**¹³C-NMR** (DMSO-d₆; 100 MHz)δ_C (ppm): 116,3 (Aryl-CH); 116,4 (Aryl-CH); 116,6 (C-5); 116,7 (Aryl-CH); 119,3 (Aryl-C); 120,2 (Aryl-CH); 124,2 (Aryl-CH); 124,3 (Aryl-CH); 130,0 (Aryl-C); 130,8 (Aryl-CH); 133,8 (C-1'); 145,9 (Aryl-C); 148,8 (Aryl-C); 153,4 (Aryl-C); 165,2 (C-4); 166,6 (C-2)**IR** (ATR)ν (cm⁻¹): 3380 (m); 1714 (m); 1651 (s); 1571 (m); 1495 (m); 1366 (m); 1311 (m); 1154 (s); 865 (m); 761 (m); 606 (m)**MS** (EI; 70 eV)m/z (%): 166 [C₈H₆O₂S]⁺ (100); 329 [M]⁺ (43)**MS** (EI-HRMS)m/z berechnet für C₁₆H₁₁NO₅S: 329,0358;gefunden: 329,0363 [M]⁺**(Z)-5-(3,4-Dihydroxybenzyliden)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)thiazolidin-2,4-dion (166)
SCHL-24233**C₁₉H₁₇NO₇S
(403,41 g/mol)

Gemäß **AAV2** aus **SCHL-24232** (385 mg; 1,36 mmol), 3,4-Dihydroxybenzaldehyd (188 mg; 1,36 mmol) und Ethylendiammoniumdiacetat (27 mg; 0,15 mmol)

Reinigung: Waschen mit Methanol

Gelber FS (356 mg; 0,88 mmol; 65 %)

Smp.: 269 °C (Zers.)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 3,68 (s; 3H; *H*-2'); 3,72 (s; 6H; *H*-1'; *H*-3'); 6,79 (s; 2H; 2x Aryl-*H*); 6,86-6,88 (m; 1H; Aryl-*H*); 6,99-7,04 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,75 (s; 1H; *H*-1''); 9,70 (br s; 2H; 2x Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 56,1 (*C*-1'; *C*-3'); 60,0 (*C*-2'); 106,1 (2x Aryl-CH); 116,3 (Aryl-CH); 116,4 (*C*-5); 124,1 (Aryl-CH); 124,3 (Aryl-CH); 128,7 (2x Aryl-*C*); 133,8 (*C*-1''); 137,8 (Aryl-*C*); 145,9 (Aryl-*C*); 148,8 (Aryl-*C*); 153,0 (2x Aryl-*C*); 165,3 (*C*-4); 166,9 (*C*-2)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3450 (m); 1735 (w); 1672 (s); 1579 (m); 1508 (m); 1301 (m); 1223 (m); 1117 (s); 989 (m); 741 (m); 524 (m)

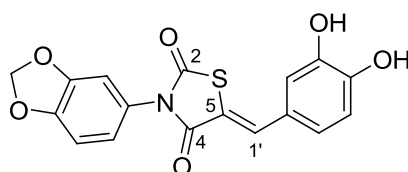
MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 166 [C₈H₆O₂S]⁺ (56); 209 (20); 403 [M]⁺ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₉H₁₇NO₇S: 403,0726; gefunden: 403,0709 [M]⁺

(Z)-3-(Benzo[*d*][1,3]dioxol-5-yl)-5-(3,4-dihydroxybenzyliden)thiazolidin-2,4-dion (169)
SCHL-24254



C₁₇H₁₁NO₆S
(357,34 g/mol)

Gemäß **AAV2** aus **SCHL-24247** (380 mg; 1,60 mmol), 3,4-Dihydroxybenzaldehyd (221 mg; 1,60 mmol) und Ethylendiammoniumdiacetat (32 mg; 0,18 mmol)

Reinigung: Waschen mit Methanol

Gelber FS (401 mg; 1,12 mmol; 70 %)

Smp.: 203 °C (Zers.)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 6,11 (s; 2H; CH₂); 6,88-6,91 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,02-7,07 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,78 (s; 1H; *H*-1'); 9,48 (br s; 2H; 2x Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 101,8 (CH₂); 108,1 (Aryl-CH); 108,9 (Aryl-CH); 116,3 (Aryl-CH); 116,4 (Aryl-CH; *C*-5); 121,9 (Aryl-CH); 124,1 (Aryl-CH); 124,3 (Aryl-*C*); 126,5 (Aryl-*C*); 133,8

(C-1'); 145,9 (Aryl-C); 147,4 (Aryl-C); 147,6 (Aryl-C); 148,8 (Aryl-C); 165,4 (C-4); 167,1 (C-2)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3441 (m); 3416 (m); 3312 (w); 1748 (m); 1680 (s); 1611 (m); 1583 (m); 1492 (m); 1377 (m); 1350 (m); 1245 (m)

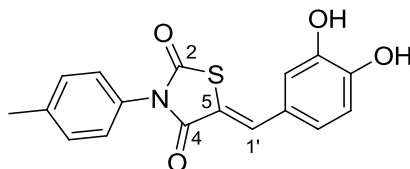
MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 166 [C₈H₆O₂S]⁺ (100); 357 [M]⁺ (60)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₇H₁₁NO₆S: 357,0307; gefunden: 357,0314 [M]⁺

(Z)-5-(3,4-Dihydroxybenzyliden)-3-*p*-tolylthiazolidin-2,4-dion (163) SCHL-24261



C₁₇H₁₃NO₄S
(327,35 g/mol)

Gemäß **AAV2** aus **SCHL-24258** (583 mg; 2,81 mmol), 3,4-Dihydroxybenzaldehyd (389 mg; 2,81 mmol) und Ethylendiammoniumdiacetat (56 mg; 0,31 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(EtOAc, Isohexan; 4:1)

Gelber FS (350 mg; 1,07 mmol; 38 %)

Smp.: 220 °C (Zers.)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,37 (s; 3H; CH₃); 6,90-6,92 (m; 1H; Aryl-H); 7,02-7,08 (m; 2H; Aryl-H); 7,28-7,34 (m; 4H; Aryl-H); 7,80 (s; 1H; H-1'); 9,67 (br s; 2H; Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 16,9 (CH₃); 116,2 (Aryl-CH); 116,3 (C-5); 116,5 (Aryl-CH); 124,2 (Aryl-CH); 124,2 (2x Aryl-CH); 126,9 (2x Aryl-CH); 128,9 (Aryl-C); 129,6 (Aryl-C); 132,2 (C-1'); 135,8 (Aryl-C); 145,9 (Aryl-C); 149,0 (Aryl-C); 165,0 (C-4); 166,6 (C-2)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3488 (m); 3378 (m); 1732 (m); 1668 (m); 1572 (m); 1509 (m); 1364 (m); 1281 (s); 1115 (m); 784 (m)

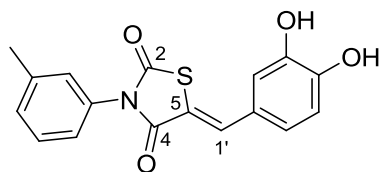
MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 166 [C₈H₆O₂S]⁺ (100); 327 [M]⁺ (52)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₇H₁₃NO₄S: 327,0565; gefunden: 327,0573 [M]⁺

(Z)-5-(3,4-Dihydroxybenzyliden)-3-*m*-tolylthiazolidin-2,4-dion (162) SCHL-24272



C₁₇H₁₃NO₄S
(327,35 g/mol)

Gemäß **AAV2** aus **SCHL-24262** (344 mg; 1,66 mmol), 3,4-Dihydroxybenzaldehyd (229 mg; 1,66 mmol) und Ethylendiammoniumdiacetat (33 mg; 0,18 mmol)

Reinigung: Waschen mit Methanol

Gelber FS (310 mg; 0,95 mmol; 57 %)

Smp.: 245 °C (Zers.)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,36 (s; 3H; CH₃); 6,90-7,08 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,20-7,43 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,79 (s; 1H; *H*-1'); 9,67 (br s; 2H; 2x Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 20,7 (CH₃); 116,3 (Aryl-CH); 116,4 (C-5 und Aryl-CH); 124,2 (Aryl-CH); 124,3 (Aryl-CH); 125,1 (Aryl-CH); 128,4 (Aryl-CH); 128,9 (Aryl-CH); 129,7 (Aryl-C); 133,1 (C-1'); 133,9 (Aryl-C); 138,6 (Aryl-C); 145,9 (Aryl-C); 148,9 (Aryl-C); 165,3 (C-2); 167,1 (C-4)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3538 (m); 3416 (m); 3015 (w); 1734 (m); 1666 (s); 1582 (m); 1446 (m); 1140 (m); 775 (m)

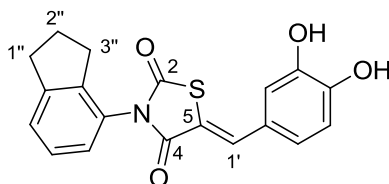
MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 166 [C₈H₆O₂S]⁺ (100); 327 [M]⁺ (64)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₇H₁₃NO₄S: 327,0565; gefunden: 327,0554 [M]⁺

(Z)-3-(Indan-4-yl)-5-(3,4-dihydroxybenzyliden)thiazolidin-2,4-dion (164) SCHL-24273



C₁₉H₁₅NO₄S
(353,39 g/mol)

Gemäß **AAV2** aus **SCHL-24260** (355 mg; 1,52 mmol), 3,4-Dihydroxybenzaldehyd (210 mg; 1,52 mmol) und Ethylendiammoniumdiacetat (30 mg; 0,17 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(EtOAc, Isohexan; 4:1)

Gelber FS (231 mg; 0,65 mmol; 43 %)

Smp.: 205 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,98-2,05 (m; 2H; *H*-2''); 2,70 (t; *J* = 7,5 Hz; 2H; CH₂); 2,96 (t; *J* = 7,4 Hz; 2H; CH₂); 6,90-6,92 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,03-7,09 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,16-7,81 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,27-7,37 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,82 (s; 1H; *H*-1'); 9,70 (br s; 2H; Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 24,3 (C-2''); 30,0 (CH₂); 32,5 (CH₂); 116,1 (Aryl-CH); 116,3 (C-5); 116,5 (Aryl-CH); 124,2 (2x Aryl-CH); 125,2 (Aryl-CH); 125,8 (Aryl-CH); 127,1 (Aryl-C); 129,3 (Aryl-C); 134,3 (C-1'); 141,8 (Aryl-C); 145,7 (Aryl-C); 145,9 (Aryl-C); 148,9 (Aryl-C); 164,7 (C-4); 166,3 (C-2)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3492 (m); 3385 (m); 3277 (m); 2936 (w); 1738 (m); 1668 (s); 1584 (m); 1363 (m); 1183 (m); 780 (m); 609 (m)

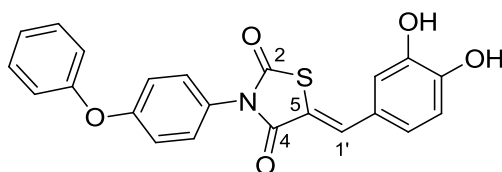
MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 166 [C₈H₆O₂S]⁺ (100); 353 [M]⁺ (46)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₉H₁₅NO₄S: 353,0722; gefunden: 353,0688 [M]⁺

(Z)-5-(3,4-Dihydroxybenzyliden)-3-(4-phenoxyphenyl)thiazolidin-2,4-dion (170)
SCHL-24274



C₂₂H₁₅NO₅S
(405,42 g/mol)

Gemäß **AAV2** aus **SCHL-24270** (355 mg; 1,24 mmol), 3,4-Dihydroxybenzaldehyd (172 mg; 1,24 mmol) und Ethylendiammoniumdiacetat (25 mg; 0,14 mmol)

Reinigung: Waschen mit Methanol

Gelber FS (429 mg; 1,06 mmol; 85 %)

Smp.: 254 °C (Zers.)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 6,89-6,91 (1H; Aryl-*H*); 7,03-7,23 (m; 7H; Aryl-*H*); 7,41-7,47 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,80 (s; 1H; *H*-1'); 9,61 (br s; 2H; 2x Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 116,3 (Aryl-CH); 116,4 (2x Aryl-CH); 118,2 (C-5 und Aryl-CH); 119,3 (Aryl-CH und 2x Aryl-CH); 124,1 (Aryl-CH); 124,2 (Aryl-C); 127,8 (2x Aryl-CH); 129,7 (2x Aryl-CH); 130,1 (Aryl-C); 133,8 (C-1'); 145,9 (Aryl-C); 148,8 (Aryl-C); 155,7 (Aryl-C); 157,2 (Aryl-C); 165,3 (C-4); 167,1 (C-2)

IR (ATR)

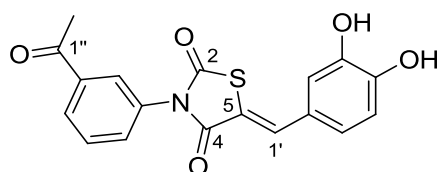
ν (cm⁻¹): 3479 (m); 3307 (m); 3072 (w); 1729 (m); 1583 (m); 1505 (m); 1485 (m); 1378 (m); 1065 (m); 560 (m)

MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 166 [C₈H₆O₂S]⁺ (100); 403 (11); 405 [M]⁺ (69)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₂₂H₁₅NO₅S: 405,0671; gefunden: 405,0673 [M]⁺

(Z)-3-(3-Acetylphenyl)-5-(3,4-dihydroxybenzyliden)thiazolidin-2,4-dion (167)
SCHL-24289


C₁₈H₁₃NO₅S
(355,36 g/mol)

Gemäß **AAV2** aus **SCHL-2487** (346 mg; 1,47 mmol), 3,4-Dihydroxybenzaldehyd (203 mg; 1,47 mmol) und Ethylendiammoniumdiacetat (29 mg; 0,16 mmol)

Reinigung: Waschen mit Methanol

Gelber FS (381 mg; 1,07 mmol; 73 %)

Smp.: 274 °C (Zers.)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,61 (s; 3H; CH₃); 6,90- 6,92 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,03-7,09 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,70-7,72 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,82 (s; 1H; *H*-1'); 8,04-8,08 (m; 2H; Aryl-*H*); 9,59 (br s; 2H; 2x Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 26,7 (CH₃); 116,3 (Aryl-CH); 116,4 (Aryl-CH; C-5); 124,2 (Aryl-CH); 124,2 (Aryl-CH); 127,7 (Aryl-CH); 128,7 (Aryl-CH); 129,5 (Aryl-CH); 132,6 (Aryl-C); 133,6 (C-1'); 134,0 (Aryl-C); 137,7 (Aryl-C); 145,9 (Aryl-C); 148,9 (Aryl-C); 165,2 (C-4); 167,1 (C-2); 197,0 (C-1'')

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3447 (m); 3368 (m); 3322 (m); 1755 (w); 1678 (m); 1608 (m); 1581 (m); 1505 (s); 1376 (m); 1278 (m)

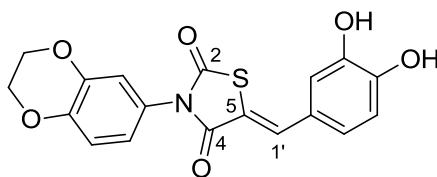
MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 166 [C₈H₆O₂S]⁺ (100); 256 (54); 355 [M]⁺ (51)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₈H₁₃NO₅S: 355,0514; gefunden: 355,0502 [M]⁺

(Z)-3-(2,3-Dihydrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-yl)-5-(3,4-dihydroxybenzyliden)thiazolidin-2,4-dion (168) SCHL-24290



C₁₈H₁₃NO₆S
(371,36 g/mol)

Gemäß **AAV2** aus **SCHL-24282** (328 mg; 1,30 mmol), 3,4-Dihydroxybenzaldehyd (180 mg; 1,30 mmol) und Ethylendiammoniumdiacetat (26 mg; 0,14 mmol)

Reinigung: Waschen mit Methanol

Gelber FS (402 mg; 1,08 mmol; 83 %)

Smp.: 244 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 4,29 (s; 4H; CH₂); 6,85-6,91 (m; 2H; Aryl-*H*); 6,96-7,07 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,77 (s; 1H; *H*-1'); 9,66 (br s; 2H; 2x Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 63,9 (CH₂); 64,0 (CH₂); 116,2 (Aryl-CH); 116,4 (Aryl-CH); 116,5 (Aryl-CH); 117,0 (C-5); 117,1 (Aryl-CH); 120,9 (Aryl-CH); 124,1 (Aryl-CH); 124,3 (Aryl-C); 125,9 (Aryl-C); 133,7 (C-1'); 143,2 (Aryl-C); 143,8 (Aryl-C); 145,8 (Aryl-C); 148,7 (Aryl-C); 165,3 (C-4); 167,0 (C-2)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3461 (m); 3199 (w); 3008 (w); 1732 (w); 1671 (s); 1578 (m); 1520 (m); 1437 (m); 1358 (m); 1144 (m)

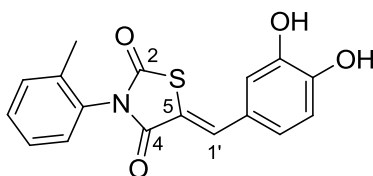
MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 166 [C₈H₆O₂S]⁺ (100); 371 [M]⁺ (39)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₈H₁₃NO₆S: 371,0464; gefunden: 371,0456 [M]⁺

(Z)-5-(3,4-Dihydroxybenzyliden)-3-*o*-tolylthiazolidin-2,4-dion (161) SCHL-24291



C₁₇H₁₃NO₄S
(327,35 g/mol)

Gemäß **AAV2** aus **SCHL-24277** (337 mg; 1,63 mmol), 3,4-Dihydroxybenzaldehyd (225 mg; 1,63 mmol) und Ethylendiammoniumdiacetat (33 mg; 0,18 mmol)

Reinigung: Waschen mit Methanol

Gelber FS (277 mg; 0,85 mmol; 52 %)

Smp.: 222 °C (Zers.)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,11 (s; 3H; CH₃); 6,90-6,92 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,04-7,09 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,35-7,43 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,83 (s; 1H; *H*-1'); 9,66 (br s; 2H; 2x Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 16,9 (CH₃); 116,2 (Aryl-CH); 116,3 (C-5); 116,5 (Aryl-CH); 124,2 (Aryl-CH); 124,2 (Aryl-CH); 126,9 (Aryl-CH); 128,9 (Aryl-CH); 129,6 (Aryl-C); 130,7 (Aryl-CH); 132,2 (Aryl-C); 134,3 (Aryl-C); 135,8 (C-1'); 145,9 (Aryl-C); 149,0 (Aryl-C); 165,0 (C-4); 166,6 (C-2)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3347 (m); 3308 (m); 3062 (m); 2973 (m); 1705 (w); 1646 (m); 1573 (m); 1443 (m); 1367 (m); 1289 (m); 1142 (m)

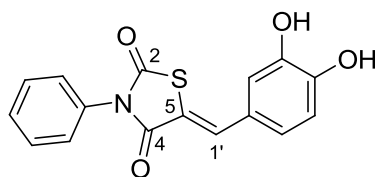
MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 166 [C₈H₆O₂S]⁺ (100); 327 [M]⁺

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₇H₁₃NO₄S: 327,0565; gefunden: 327,0583 [M]⁺ (41)

(Z)-5-(3,4-Dihydroxybenzyliden)-3-phenylthiazolidin-2,4-dion (58) SCHL-24295



C₁₆H₁₁NO₄S
(313,33 g/mol)

Gemäß **AAV2** aus **SCHL-24292** (440 mg; 2,28 mmol), 3,4-Dihydroxybenzaldehyd (315 mg; 2,28 mmol) und Ethylendiammoniumdiacetat (46 mg; 0,25 mmol)

Reinigung: Waschen mit Methanol

Gelber FS (514 mg; 1,64 mmol; 72 %)

Smp.: 270 °C (Zers.)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 6,91 (d; *J* = 8,2 Hz; 1H; Aryl-*H*); 7,03-7,09 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,42-7,56 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,81 (s; 1H; *H*-1'); 9,70 (br s; 2H; 2x Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 116,3 (Aryl-CH); 116,4 (C-5); 116,5 (Aryl-CH); 124,2 (Aryl-CH); 124,3 (Aryl-CH); 128,0 (2x Aryl-CH); 129,0 (2x Aryl-CH); 129,1 (Aryl-C); 133,2 (Aryl-C); 133,9 (C-1'); 145,9 (Aryl-C); 148,9 (Aryl-C); 165,3 (C-4); 167,1 (C-2)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3386 (m); 3069 (w); 2977 (w); 1716 (w); 1650 (m); 1575 (s); 1367 (m); 1245 (m); 1160 (s); 1022 (m); 853 (m)

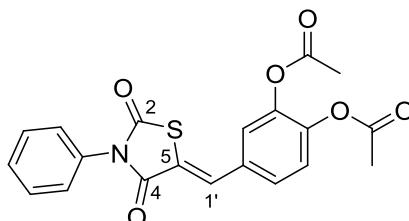
MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 166 [C₈H₆O₂S]⁺ (100); 313 [M]⁺ (76)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₆H₁₁NO₄S: 313,0409; gefunden: 313,0406 [M]⁺

(Z)-4-((2,4-Dioxo-3-phenylthiazolidin-5-yliden)methyl)-1,2-phenyldiacetat (171)
SCHL-24296



C₂₀H₁₅NO₆S
 (397,40 g/mol)

Eine Lösung von **SCHL-24295** (302 mg; 0,96 mmol) in Essigsäureanhydrid (5 ml; 5,29 mmol) wurde 3 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde mit dem zehnfachen Volumen H₂O versetzt und der entstandene FS abgetrennt.

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (514 mg; 1,64 mmol; 91 %)

Smp.: 186 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,32 (s; 3H; CH₃); 2,33 (s; 3H; CH₃); 7,45-7,57 (m; 6H; Aryl-H); 7,61-7,64 (m; 2H; Aryl-H); 7,99 (s; 1H; H-1')

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 20,3 (2x CH₃); 122,5 (C-5); 124,6 (Aryl-CH); 125,0 (Aryl-CH); 127,9 (2x Aryl-CH); 128,2 (Aryl-CH); 129,0 (3x Aryl-CH); 131,1 (Aryl-C); 131,6 (Aryl-C); 132,9 (C-1'); 142,4 (Aryl-C); 143,3 (Aryl-C); 165,0 (C-4); 166,6 (C-2); 167,9 (COO); 168,0 (COO)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3065 (w); 2938 (w); 1773 (m); 1753 (m); 1691 (s); 1497 (m); 1370 (m); 1265 (m); 1188 (s); 1010 (m)

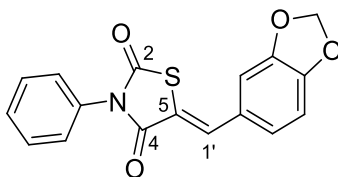
MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 166 [C₈H₆O₂S]⁺ (100); 313 [C₁₆H₁₁NO₄S] (82); 355 [C₁₈H₁₃NO₅S] (48); 397 [M]⁺ (13)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₂₀H₁₅NO₆S: 397,0620; gefunden: 397,0646 [M]⁺

(Z)-5-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ylmethylen)-3-phenylthiazolidin-2,4-dion (172)
SCHL-24298



$C_{17}H_{11}NO_4S$
 (325,34 g/mol)

Gemäß **AAV2** aus **SCHL-24292** (341 mg; 1,77 mmol), Piperonal (265 mg; 1,77 mmol) und Ethylendiammoniumdiacetat (35 mg; 0,20 mmol)

Reinigung: Waschen mit Methanol

Weißer FS (368 mg; 1,13 mmol; 64 %)

Smp.: 210 °C

1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_H (ppm): 6,15 (s; 2H; CH_2); 7,11-7,13 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,21-7,25 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,42-7,56 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,92 (s; 1H; *H*-1')

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_C (ppm): 102,0 (CH_2); 109,2 (Aryl-CH); 109,3 (Aryl-CH); 118,8 (C-5); 126,0 (2x Aryl-CH); 127,1 (2x Aryl-CH); 128,0 (Aryl-CH); 129,1 (Aryl-C und Aryl-CH); 133,1 (C-1' und Aryl-C); 148,2 (Aryl-C); 149,5 (Aryl-C); 165,2 (C-4); 166,8 (C-2)

IR (ATR)

ν (cm^{-1}): 3031 (w); 2916 (w); 1734 (m); 1689 (s); 1609 (w); 1586 (m); 1491 (m); 1450 (m); 1350 (m); 850 (m)

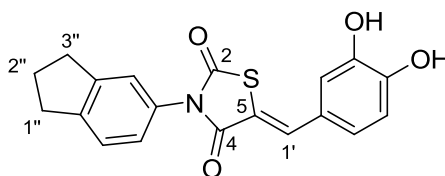
MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 178 [$C_9H_6O_2S$] (100); 325 [M]⁺ (47)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für $C_{17}H_{11}NO_4S$: 325,0409; gefunden: 325,0414 [M]⁺

(Z)-3-(Indan-5-yl)-5-(3,4-dihydroxybenzyliden)thiazolidin-2,4-dion (165) SCHL-24313



$C_{19}H_{15}NO_4S$
 (353,39 g/mol)

Gemäß **AAV2** aus **SCHL-24308** (400 mg; 1,72 mmol), 3,4-Dihydroxybenzaldehyd (237 mg; 1,72 mmol) und Ethylendiammoniumdiacetat (34 mg; 0,19 mmol)

Reinigung: Waschen mit Methanol

Gelber FS (485 mg; 1,37 mmol; 80 %)

Smp.: 219 °C (Zers.)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,07 (p; *J* = 7,5 Hz; 2H; *H*-2''); 2,88-2,92 (m; 4H; *H*-1''; *H*-3''); 6,89-6,91 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,02-7,14 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,23-7,36 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,78 (s; 1H; *H*-1'); 9,70 (br s; 2H; 2x Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 25,2 (*C*-2''); 32,0 (CH₂); 32,2 (CH₂); 116,3 (Aryl-CH); 116,4 (*C*-5); 116,5 (Aryl-CH); 123,8 (Aryl-CH); 124,1 (Aryl-CH); 124,3 (Aryl-CH); 124,6 (Aryl-CH); 125,7 (Aryl-*C*); 131,1 (Aryl-*C*); 133,8 (*C*-1'); 144,7 (Aryl-*C*); 144,8 (Aryl-*C*); 145,9 (Aryl-*C*); 148,8 (Aryl-*C*); 165,5 (*C*-4); 167,1 (*C*-2)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3486 (w); 3301 (w); 1668 (m); 1580 (m); 1362 (m); 1342 (s); 1276 (m); 1091 (m); 794 (s); 512 (s)

MS (EI)

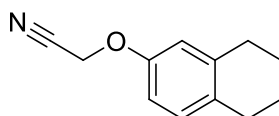
m/z (%): 166 [C₈H₆O₂S]⁺ (100); 353 [M]⁺ (60)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₉H₁₅NO₄S: 353,0722; gefunden: 353,0737 [M]⁺

D.4.3. Aryloxyacetonitril-derivate

2-(5,6,7,8-Tetrahydronaphthalen-2-yloxy)acetonitril (257) SCHL-24472



C₁₂H₁₃NO
(187,24 g/mol)

Gemäß **AAV10** aus 5,6,7,8-Tetrahydronaphthalen-2-ol (1,18 g; 7,95 mmol), K₂CO₃ (2,20 g; 15,9 mol), Chloracetonitril (0,50 ml; 7,95 mmol) und KI (40 mg; 0,24 mmol)

Keine weitere Reinigung

Schwach rotes Öl (967 mg; 5,17 mmol; 65 %)

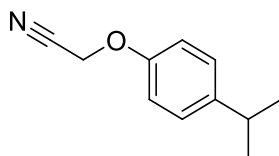
Aus 5,6,7,8-Tetrahydronaphthalen-2-ol, K₂CO₃ und Bromacetonitril in Aceton von BENARAB et al. hergestellt (97 %).^[473]

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,69-1,73 (m; 4H; 2x CH₂); 2,65-2,70 (m; 4H; 2x CH₂); 5,08 (s; 2H; CNCH₂); 6,75-6,80 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,01-7,03 (m; 1H; Aryl-*H*)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 23,1 (CH₂); 23,3 (CH₂); 28,5 (CH₂); 29,6 (CH₂); 54,0 (CNCH₂); 113,1 (Aryl-CH); 115,2 (Aryl-CH); 117,4 (CN); 130,5 (Aryl-CH); 131,2 (Aryl-*C*); 138,6 (Aryl-*C*); 154,6 (Aryl-*C*)

2-(4-Isopropylphenoxy)acetonitril (258) SCHL-24474

C₁₁H₁₃NO
(175,23 g/mol)

Gemäß **AAV10** aus 4-Isopropylphenol (1,08 g; 7,95 mmol), K₂CO₃ (2,20 g; 15,9 mol), Chloracetonitril (0,50 ml; 7,95 mmol) und KI (40 mg; 0,24 mmol)

Keine weitere Reinigung

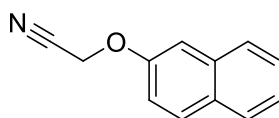
Schwach rotes Öl (975 mg; 5,56 mmol; 70 %)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,25 (d; 6H; 2x CH₃); 3,07 (m; 1H; CH); 4,81 (s; 2H; CH₂); 6,87-6,92 (m; 2H; Aryl-H); 7,41-7,45 (m; 2H; Aryl-H)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 22,1 (2x CH₃); 30,0 (CH); 57,7 (CNCH₂); 115,0 (CN); 127,7 (2x Aryl-CH); 111,6 (2x Aryl-CH); 139,1 (Aryl-C); 154,2 (Aryl-C)

2-(Naphthalen-2-yloxy)acetonitril (259) SCHL-24418

C₁₂H₉NO
(183,21 g/mol)

Gemäß **AAV10** aus 2-Naphthol (1,15 g; 7,95 mmol), K₂CO₃ (2,20 g; 15,9 mol), Chloracetonitril (0,50 ml; 7,95 mmol) und KI (40 mg; 0,24 mmol)

Keine weitere Reinigung

Schwach rotes Öl (976 mg; 5,32 mmol; 67 %)

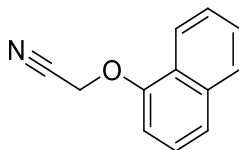
¹H-NMR (CDCl₃; 400 MHz)

δ_H (ppm): 4,87 (s; 2H; CH₂); 7,18-7,25 (m; 2H; Aryl-H); 7,41-7,53 (m; 2H; Aryl-H); 7,78-7,83 (m; 3H; Aryl-H)

Die gemessenen Werte entsprechen den Literaturdaten.^[474]

¹³C-NMR (CDCl₃; 100 MHz)

δ_C (ppm): 53,4 (CH₂); 107,7 (Aryl-CH); 115,1 (CN); 118,1 (Aryl-CH); 124,8 (Aryl-CH); 126,9 (Aryl-CH); 127,1 (Aryl-CH); 127,7 (Aryl-CH); 129,8 (Aryl-CH); 130,2 (Aryl-C); 133,9 (Aryl-C); 154,4 (Aryl-C)

2-(Naphthalen-1-yloxy)acetonitril (260) SCHL-24510

C₁₂H₉NO
(183,21 g/mol)

Gemäß **AAV10** aus 1-Naphthol (1,15 g; 7,95 mmol), K₂CO₃ (2,20 g; 15,9 mol), Chloracetonitril (0,50 ml; 7,95 mmol) und KI (40 mg; 0,24 mmol)

Keine weitere Reinigung

Schwach gelbes Öl
(946 mg; 5,17 mmol; 65 %)

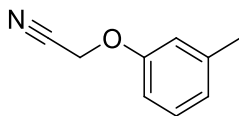
¹H-NMR (CDCl₃; 400 MHz)

δ_H (ppm): 4,87 (s; 2H; CH₂); 6,81-6,90 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,33-7,51 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,81-7,88 (m; 2H; Aryl-*H*)

Die gemessenen Werte entsprechen den Literaturdaten.^[475]

¹³C-NMR (CDCl₃; 100 MHz)

δ_C (ppm): 54,5 (CH₂); 104,5 (Aryl-CH); 115,3 (CN); 120,6 (Aryl-CH); 122,6 (Aryl-CH); 126,7 (Aryl-CH); 126,9 (Aryl-CH); 127,2 (Aryl-CH); 129,8 (Aryl-CH); 132,0 (Aryl-C); 135,1 (Aryl-C); 155,5 (Aryl-C)

2-(*m*-Tolyloxy)acetonitril (73) SCHL-24419

C₉H₉NO
(147,17 g/mol)

Gemäß **AAV10** aus *m*-Kresol (5,01 ml; 47,7 mmol), K₂CO₃ (13,2 g; 95,4 mmol), Chloracetonitril (3,00 ml; 47,7 mmol) und KI (238 mg; 1,44 mmol)

Keine weitere Reinigung

Schwach rotes Öl (4,84 g; 32,9 mmol; 69 %)

¹H-NMR (CDCl₃; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,36 (s; 3H; CH₃); 4,73 (s; 2H; CH₂); 6,78-6,80 (m; 2H; Aryl-*H*); 6,91 (d; *J* = 7,5 Hz; 1H; Aryl-*H*); 7,23 (t; *J* = 7,8 Hz; 1H; Aryl-*H*)

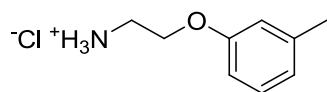
Die gemessenen Werte entsprechen den Literaturdaten.^[476]

¹³C-NMR (CDCl₃; 100 MHz)

δ_C (ppm): 21,4 (CH₃); 53,5 (CH₂); 111,7 (Aryl-CH); 115,2 (CN); 115,7 (Aryl-CH); 123,9 (Aryl-CH); 129,5 (Aryl-CH); 140,1 (Aryl-C); 156,5 (Aryl-C)

D.4.4. Aryloxyalkylaminderivate

2-(*m*-Tolyloxy)ethan ammoniumchlorid (75) SCHL-24425



C₉H₁₄ClNO
(187,67 g/mol)

Gemäß **AAV8** aus **SCHL-24419** (4,82 g; 32,8 mmol), 4 M Lösung von LiAlH₄ (4,10 ml; 16,4 mmol) in Et₂O, ausreichend H₂O und 2 M Lösung von HCl in Et₂O

Reinigung: Waschen mit Et₂O (einmal 0,50 ml) Weißer FS (5,53 g; 29,5 mmol; 90 %)

Als freie Base aus 1-(2-Bromethoxy)-3-methylbenzen und wässrigem Ammoniak von KAHANE et al. hergestellt (Keine Ausbeute angegeben).^[477]

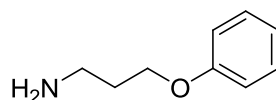
¹H-NMR (D₂O; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,30 (s; 3H; CH₃); 3,39 (t; *J* = 4,8 Hz; 2H; NH₃CH₂); 4,23 (t; *J* = 4,8 Hz; 2H; OCH₂); 6,81-6,91 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,23-7,27 (m; 1H; Aryl-*H*)

¹³C-NMR (D₂O; 100 MHz)

δ_C (ppm): 20,5 (CH₃); 39,0 (OCH₂); 63,8 (NH₃CH₂); 111,6 (Aryl-CH); 115,3 (Aryl-CH); 122,6 (Aryl-CH); 129,8 (Aryl-CH); 140,6 (Aryl-C); 155,7 (Aryl-C)

3-Phenoxypropan-1-amin (261) SCHL-24410



C₉H₁₃NO
(151,21 g/mol)

Eine Suspension von **SCHL-24408** (1,74 g; 6,19 mmol) in Methanol wurde mit einer 64%igen Lösung von Hydrazinhydrat (0,52 ml; 6,86 mmol) versetzt und 6 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde mit 32%iger HCl-Lösung versetzt (2 ml; 20,62 mmol) und 30 min bei RT gerührt. Es wurde mit dem doppelten Volumen H₂O versetzt, auf 0 °C gekühlt und der entstandene FS abgetrennt und verworfen. Es wurde pH = 14 eingestellt und dreimal mit Et₂O extrahiert. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das LM entfernt.

Keine weitere Reinigung

Schwach gelbes Öl (468 mg; 3,10 mmol; 50 %)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,37 (br s; 2H; NH₂); 1,77 (m; 2H; CH₂); 2,68 (t; *J* = 6,7 Hz; 2H; CH₂); 4,01 (t; *J* = 6,4 Hz; 2H; CH₂); 6,89 -6,93 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,25-7,29 (m; 2H; Aryl-*H*)

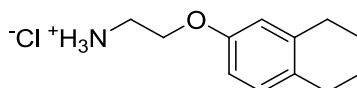
Die gemessenen Werte entsprechen den Literaturdaten.^[478]

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 32,7 (CH₂); 38,4 (CH₂); 65,3 (CH₂); 114,3 (2x Aryl-CH); 120,2 (Aryl-CH); 129,3 (2x Aryl-CH); 158,6 (Aryl-C)

Die gemessenen Werte entsprechen den Literaturdaten.^[478]

2-(5,6,7,8-Tetrahydronaphthalen-2-yloxy)ethan ammoniumchlorid (262) SCHL-24482



C₁₂H₁₈ClNO
(227,73 g/mol)

Gemäß **AAV8** aus **SCHL-24472** (944 mg; 5,04 mmol), 4 M Lösung von LiAlH₄ (0,63 ml; 2,52 mmol) in Et₂O, ausreichend H₂O und ausreichend 2 M Lösung von HCl in Et₂O

Reinigung: Waschen mit Et₂O

Weißer FS (1,01 g; 4,44 mmol; 88 %)

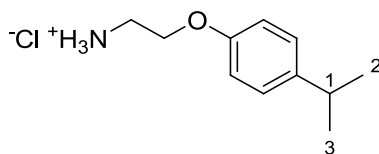
¹H-NMR (D₂O; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,77-1,80 (m; 4H; 2x CH₂); 2,72-2,77 (m; 4H; 2x CH₂); 3,46 (t; *J* = 5,7 Hz; 2H; NH₃CH₂); 4,28 (t; *J* = 5,7 Hz; 2H; OCH₂); 6,84-6,87 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,13-7,15 (m; 1H; Aryl-*H*)

¹³C-NMR (D₂O; 100 MHz)

δ_C (ppm): 22,6 (CH₂); 22,9 (CH₂); 28,0 (CH₂); 29,1 (CH₂); 39,0 (NH₃CH₂); 64,1 (OCH₂); 112,6 (Aryl-CH); 114,6 (Aryl-CH); 130,3 (Aryl-CH); 130,9 (Aryl-C); 139,1 (Aryl-C); 155,4 (Aryl-C)

2-(4-Isopropylphenoxy)ethan ammoniumchlorid (263) SCHL-24484



C₁₁H₁₈ClNO
(215,72 g/mol)

Gemäß **AAV8** aus **SCHL-24474** (960 mg; 5,48 mmol), 4 M Lösung von LiAlH₄ (0,69 ml; 2,74 mmol) in Et₂O, ausreichend H₂O und ausreichend 2 M Lösung von HCl in Et₂O

Reinigung: Waschen mit Et₂O

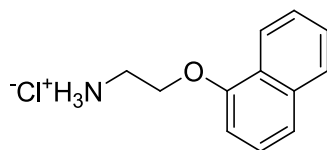
Weißer FS (959 mg; 4,45 mmol; 81 %)

¹H-NMR (D₂O; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,16 (d; 6H; *H*-2; *H*-3); 3,12-3,14 (m; 1H; *H*-1); 3,47 (t; *J* = 5,7 Hz; 2H; NH₃CH₂); 4,76 (t; *J* = 5,7 Hz; 2H; OCH₂); 6,94-6,99 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,53-7,59 (m; 2H; Aryl-*H*)

¹³C-NMR (D₂O; 100 MHz)

δ_C (ppm): 23,1 (C-2; C-3); 32,5 (C-1); 41,3 (NH₃CH₂); 64,2 (OCH₂); 114,6 (2x Aryl-CH); 125,9 (2x Aryl-CH); 140,6 (Aryl-C); 155,2 (Aryl-C)

2-(Naphthalen-1-yloxy)ethanamin (264) SCHL-24525

C₁₂H₁₄ClNO
(223,70 g/mol)

Gemäß **AAV8** aus **SCHL-24510** (918 mg; 5,01 mmol), 4 M Lösung von LiAlH₄ (0,63 ml; 2,50 mmol) in Et₂O, ausreichend H₂O und ausreichend 2 M Lösung von HCl in Et₂O

Reinigung: Waschen mit Et₂O

Weißer FS (930 mg; 4,16 mmol; 83 %)

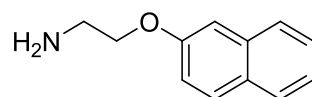
Von PIERSON et al. aus *N*-(2-(Naphthalen-1-yloxy)ethyl)phthalimid hergestellt (Keine Ausbeute angegeben).^[479]

¹H-NMR (D₂O; 400 MHz)

δ_H (ppm): 3,34 (t; *J* = 5,2 Hz; 2H; NH₂CH₂); 4,14 (t; *J* = 5,1 Hz; 2H; OCH₂); 6,81-6,89 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,31-7,50 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,80-7,86 (m; 2H; Aryl-*H*)

¹³C-NMR (D₂O; 100 MHz)

δ_C (ppm): 41,3 (NH₂CH₂); 69,9 (OCH₂); 106,7 (Aryl-CH); 118,6 (Aryl-CH); 118,8 (Aryl-CH); 120,3 (Aryl-CH); 123,7 (Aryl-CH); 125,6 (Aryl-CH); 126,0 (Aryl-CH); 127,2 (Aryl-C); 134,4 (Aryl-C); 153,8 (Aryl-C)

2-(Naphthalen-2-yloxy)ethanamin (265) SCHL-24421

C₁₂H₁₃NO
(187,24 g/mol)

Die Reaktion wurde unter Inertgas durchgeführt. Eine auf 0 °C gekühlte Lösung von **SCHL-24418** (8,73 g; 47,7 mmol) in Et₂O wurde mit einer 4 M Lösung von LiAlH₄ (6,00 ml; 23,9 mmol) in Et₂O versetzt und 2 h bei RT gerührt. Schließlich wurde auf 0 °C gekühlt, mit H₂O gequencht und die wässrige Phase abgetrennt. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das LM entfernt.

Keine weitere Reinigung

Schwach roter FS (4,84 mg; 32,9 mmol; 69 %)

¹H-NMR (CDCl₃; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,48 (br s; 2H; NH₂); 3,14 (t; *J* = 5,2 Hz; 2H; NH₂CH₂); 4,10 (t; *J* = 5,2 Hz; 2H; OCH₂); 7,14-7,19 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,32-7,46 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,72-7,78 (m; 3H; Aryl-*H*)

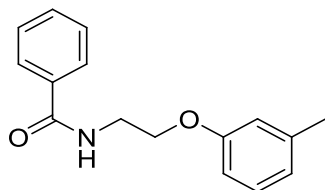
Die gemessenen Werte entsprechen den Literaturdaten.^[480]

¹³C-NMR (CDCl₃; 100 MHz)

δ_C (ppm): 41,6 (NH₂CH₂); 70,2 (OCH₂); 106,7 (Aryl-CH); 118,8 (Aryl-CH); 123,6 (Aryl-CH); 126,3 (Aryl-CH); 126,7 (Aryl-CH); 127,6 (Aryl-CH); 129,0 (Aryl-C); 129,4 (Aryl-C); 134,5 (Aryl-CH); 156,8 (Aryl-C)

D.4.5. *N*-(2-(*m*-Tolyloxy)ethyl)benzamidderivate

N-(2-(*m*-Tolyloxy)ethyl)benzamid (107) SCHL-24403



C₁₆H₁₇NO₂
(255,31 g/mol)

Gemäß **AAV5c** aus **SCHL-24425** (252 mg; 1,34 mmol), Benzoesäurechlorid (0,16 ml; 1,34 mmol) und Triethylamin (0,37 ml; 2,68 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 95:5)

Weißer FS (285 mg; 1,12 mmol; 83 %)

Smp.: 59 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,26 (s; 3H; CH₃); 3,62 (ps q; *J* = 5,9 Hz; 2H; NHCH₂); 4,10 (t; *J* = 6,0 Hz; 2H; OCH₂); 6,73-6,78 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,31-7,17 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,44-7,54 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,85-7,87 (m; 2H; Aryl-*H*); 8,67 (t; *J* = 5,3 Hz; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 21,0 (CH₃); 38,9 (NHCH₂); 65,7 (OCH₂); 111,4 (Aryl-CH); 115,0 (Aryl-CH); 121,3 (Aryl-CH); 127,1 (2x Aryl-CH); 128,2 (2x Aryl-CH); 129,2 (Aryl-CH); 131,2 (Aryl-CH); 134,2 (Aryl-C); 138,9 (Aryl-C); 158,4 (Aryl-C); 166,4 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3309 (m); 3038 (w); 2934 (w); 2879 (w); 1633 (s); 1534 (s); 1487 (m); 1309 (m); 1261 (m); 1154 (m); 1064 (m); 768 (m); 688 (s)

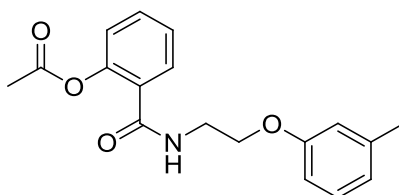
MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 105 (59); 148 (100); 255 [M]⁺ (6)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₆H₁₇NO₂: 255,1259; gefunden: 255,1293 [M]⁺

2-(2-(*m*-Tolyloxy)ethylcarbamoyl)phenylacetat (77) SCHL-24346



C₁₈H₁₉NO₄
(313,35 g/mol)

Gemäß **AAV5c** aus **SCHL-24425** (150 mg; 0,79 mmol), Acetylsalicylsäurechlorid (143 mg; 0,79 mmol) und Triethylamin (0,22 ml; 1,58 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 95:5)

Weißer FS (221 mg; 0,71 mmol; 89 %)

Smp.: 68 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,18 (s; 3H; Acyl-CH₃); 2,27 (s; 3H; Aryl-CH₃); 3,56 (ps q; *J* = 5,7 Hz; 2H; NHCH₂); 4,05 (t; *J* = 5,8 Hz; 2H; OCH₂); 6,73-6,78 (m; 3H; Aryl-H); 7,14-7,19 (m; 2H; Aryl-H); 7,31-7,35 (m; 1H; Aryl-H); 7,49-7,53 (m; 1H; Aryl-H); 7,57-7,59 (m; 1H; Aryl-H); 8,46 (t; *J* = 5,7 Hz; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 20,6 (Acyl-CH₃); 21,0 (Aryl-CH₃); 38,7 (NHCH₂); 65,8 (OCH₂); 111,4 (Aryl-CH); 115,1 (Aryl-CH); 121,3 (Aryl-CH); 123,1 (Aryl-CH); 125,7 (Aryl-CH); 128,9 (Aryl-CH); 129,0 (Aryl-CH); 129,2 (Aryl-C); 131,2 (Aryl-CH); 138,9 (Aryl-C); 147,9 (Aryl-C); 158,4 (Aryl-C); 165,4 (NHCO); 168,7 (COO)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3331 (w); 3079 (w); 2990 (w); 2925 (w); 1750 (m); 1641 (s); 1538 (s); 1264 (s); 1198 (s); 1174 (s); 658 (s)

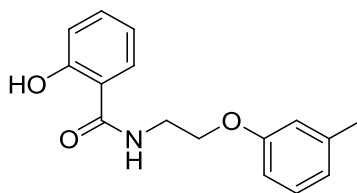
MS (ESI)

m/z (%): 314 [M+H]⁺ (36); 336 [M+Na]⁺ (100); 649 [2M+Na]⁺ (23)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₈H₁₉NO₄: 313,1314; gefunden: 313,1298 [M]⁺

2-Hydroxy-<i>N</i>-(2-(<i>m</i>-tolylloxy)ethyl)benzamid (60) SCHL-24341



C₁₆H₁₇NO₃
(271,31 g/mol)

Gemäß **AAV14** aus **SCHL-24346** (410 mg; 1,31 mmol), Eisessig (25,0 ml; 0,44 mol) und 32%iger wässriger HCl-Lösung (1,0 ml; 10,3 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (327 mg; 1,22 mmol; 92 %)

Smp.: 97 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,26 (s; 3H; CH₃); 3,67 (ps q; *J* = 5,7 Hz; 2H; NHCH₂); 4,11 (t; *J* = 5,8 Hz; 2H; OCH₂); 6,74-6,78 (m; 3H; Aryl-H); 6,87-6,92 (m; 2H; Aryl-H); 7,13-7,17 (m; 1H; Aryl-H);

7,38-7,42 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,86-7,89 (m; 1H; Aryl-*H*); 9,02 (t; $J = 5,8$ Hz; 1H; CONH); 12,45 (s; 1H; Aryl-OH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_{C} (ppm): 21,0 (CH_3); 38,6 (NHCH_2); 65,6 (OCH_2); 111,4 (Aryl-CH); 115,1 (Aryl-CH); 115,3 (Aryl-C); 117,3 (Aryl-CH); 118,6 (Aryl-CH); 121,4 (Aryl-CH); 127,9 (Aryl-CH); 129,2 (Aryl-CH); 133,7 (Aryl-CH); 139,0 (Aryl-C); 158,3 (Aryl-C); 159,7 (Aryl-C); 168,9 (NHCO)

IR (ATR)

ν (cm^{-1}): 3356 (m); 3054 (w); 2943 (w); 1645 (m); 1583 (s); 1539 (m); 1490 (s); 1251 (s); 1162 (s); 752 (s)

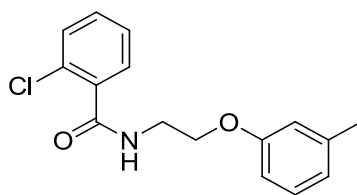
MS (ESI)

m/z (%): 272 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100); 294 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (84); 565 $[2\text{M}+\text{Na}]^+$ (20)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{NO}_3$: 271,1208; gefunden: 271,1193 $[\text{M}]^+$

2-Chlor-<i>N</i>-(2-(<i>m</i>-tolylloxy)ethyl)benzamid (109) SCHL-24404
--



$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{ClNO}_2$
(289,76 g/mol)

Gemäß **AAV5c** aus **SCHL-24425** (202 mg; 1,08 mmol), 2-Chlorbenzoesäurechlorid (0,14 ml; 1,08 mmol) und Triethylamin (0,30 ml; 2,16 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (278 mg; 0,96 mmol; 89 %)

Smp.: 83 °C

^1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_{H} (ppm): 2,27 (s; 3H; CH_3); 3,59 (ps q; $J = 5,7$ Hz; 2H; NHCH_2); 4,07 (t; $J = 5,8$ Hz; 2H; OCH_2); 6,74-6,78 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,14-7,18 (m; 1H; Aryl-*H*); 3,36-7,50 (m; 4H; Aryl-*H*); 8,68 (t; $J = 5,4$ Hz; 1H; CONH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_{C} (ppm): 21,0 (CH_3); 38,6 (NHCH_2); 65,7 (OCH_2); 111,5 (Aryl-CH); 115,1 (Aryl-CH); 121,3 (Aryl-CH); 126,9 (Aryl-CH); 128,7 (Aryl-CH); 129,1 (Aryl-CH); 129,5 (Aryl-CH); 129,8 (Aryl-C); 130,6 (Aryl-CH); 136,7 (Aryl-C); 138,9 (Aryl-C); 158,4 (Aryl-C); 166,5 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm^{-1}): 3248 (m); 3061 (w); 2931 (w); 1640 (s); 1561 (s); 1292 (s); 1257 (s); 1159 (s); 10585 (s); 692 (s)

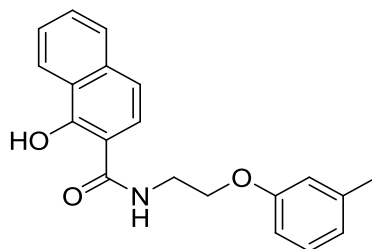
MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 139 (57); 182 (100); 289 $[\text{M}]^+$ (7)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₆H₁₆ClNO₂: 289,0870; gefunden: 289,0911 [M]⁺

1-Hydroxy-N-(2-(*m*-tolylloxy)ethyl)-2-naphthamid (103) SCHL-24406



C₂₀H₁₉NO₃
(321,37 g/mol)

Gemäß **AAV4a** und **AAV5c** aus 1-Hydroxy-2-naphthoesäure (426 mg; 2,26 mmol), Oxalylchlorid (0,29 ml; 3,39 mmol), **SCHL-24425** (424 mg; 2,26 mmol) und Triethylamin (0,63 ml; 4,52 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 95:5)

Weißer FS (298 mg; 0,93 mmol; 41 %)

Smp.: 92 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,26 (s; 3H; CH₃); 3,73 (ps q; *J* = 5,7 Hz; 2H; NHCH₂); 4,16 (t; *J* = 5,8 Hz; 2H; OCH₂); 6,73-6,80 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,15 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,38 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,53-7,67 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,86-7,92 (m; 2H; Aryl-*H*); 8,27 (m; 1H; Aryl-*H*); 9,20 (t; *J* = 5,4 Hz; 1H; CONH); 14,53 (s; 1H; OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 21,0 (CH₃); 38,8 (NHCH₂); 65,4 (OCH₂); 106,8 (Aryl-CH); 111,4 (Aryl-CH); 115,1 (Aryl-C); 117,5 (Aryl-CH); 121,4 (Aryl-CH); 122,5 (Aryl-CH); 122,9 (Aryl-CH); 124,6 (Aryl-CH); 125,7 (Aryl-CH); 127,4 (Aryl-C); 128,8 (Aryl-CH); 129,2 (Aryl-CH); 135,7 (Aryl-C); 138,9 (Aryl-C); 158,3 (Aryl-C); 159,6 (Aryl-C); 170,8 (CONH)

IR (ATR)

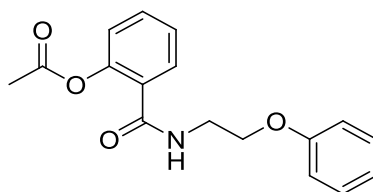
ν (cm⁻¹): 3452 (w); 3054 (w); 2942 (w); 1593 (s); 1536 (s); 1258 (s); 783 (s); 760 (s)

MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 170 (64); 214 (100); 321 [M]⁺ (62)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₂₀H₁₉NO₃: 321,1365; gefunden: 321,1394 [M]⁺

2-(2-Phenoxyethylcarbamoyl)phenylacetat (266) SCHL-24409

$C_{17}H_{17}NO_4$
(299,32 g/mol)

Gemäß **AAV5c** aus 2-Phenoxyethanamin (0,19 ml; 1,46 mmol), Acetylsalicylsäurechlorid (290 mg; 1,46 mmol) und Triethylamin (0,20 ml; 1,46 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

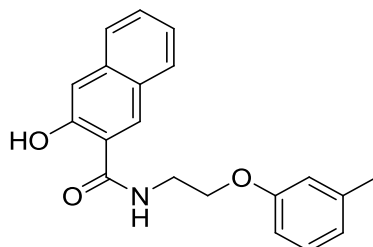
Weißer FS (359 mg; 1,20 mmol; 82 %)

1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,18 (s; 3H; CH_3); 3,57 (ps q; $J = 5,7$ Hz; 2H; CH_2); 4,07 (t; $J = 5,8$ Hz; 2H; CH_2); 6,92-7,00 (m; 3H; Aryl- H); 7,17-7,19 (m; 1H; Aryl- H); 7,28-7,25 (m; 3H; Aryl- H); 7,45-7,59 (m; 2H; Aryl- H); 8,48 (t; $J = 5,4$ Hz; 1H; CONH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_C (ppm): 20,7 (CH_3); 38,6 (NH CH_2); 65,8 (O CH_2); 114,4 (2x Aryl-CH); 120,6 (Aryl-CH); 123,2 (Aryl-CH); 125,7 (Aryl-CH); 129,0 (Aryl-CH); 129,0 (2x Aryl-CH); 129,5 (Aryl-C); 131,2 (Aryl-CH); 147,8 (Aryl-C); 158,3 (Aryl-C); 165,4 (CONH); 168,7 (CONH)

3-Hydroxy-N-(2-(*m*-tolyloxy)ethyl)-2-naphthamid (102) SCHL-24411

$C_{20}H_{19}NO_3$
(321,37 g/mol)

Gemäß **AAV4a** und **AAV5c** aus 3-Hydroxy-2-naphthoesäure (219 mg; 1,16 mmol), Oxalylchlorid (0,15 ml; 1,74 mmol), **SCHL-24425** (203 mg; 1,16 mmol) und Triethylamin (0,32 ml; 2,32 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 95:5)

Weißer FS (183 mg; 0,57 mmol; 49 %)

Smp.: 143 °C

1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,26 (s; 3H; CH_3); 3,74 (ps q; $J = 5,6$ Hz; 2H; CH_2); 4,16 (t; $J = 5,7$ Hz; 2H; CH_2); 6,74-6,81 (m; 3H; Aryl- H); 7,16 (m; 1H; Aryl- H); 7,26 (s; 1H; Aryl- H); 7,34 (m; 1H; Aryl- H); 7,49 (m; 1H; Aryl- H); 7,74 (m; 1H; Aryl- H); 7,86 (m; 1H; Aryl- H); 8,54 (s; 1H; Aryl- H); 9,22 (t; $J = 5,4$ Hz; 1H; CONH); 11,93 (s; 1H; Aryl-OH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_{C} (ppm): 20,9 (CH_3); 38,7 (NHCH_2); 65,7 (OCH_2); 110,6 (Aryl-CH); 111,4 (Aryl-CH); 115,1 (Aryl-CH); 118,6 (Aryl-C); 121,4 (Aryl-CH); 123,6 (Aryl-CH); 125,6 (Aryl-CH); 126,5 (Aryl-C); 128,1 (Aryl-CH); 128,6 (Aryl-CH); 129,1 (Aryl-CH); 129,8 (Aryl-CH); 135,9 (Aryl-C); 138,9 (Aryl-C); 154,9 (Aryl-C); 158,3 (Aryl-C); 167,9 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm^{-1}): 3379 (w); 2943 (w); 1651 (w); 1580(m); 1542 (m); 1260 (m); 1231 (m); 1169 (m); 777 (m); 754 (m)

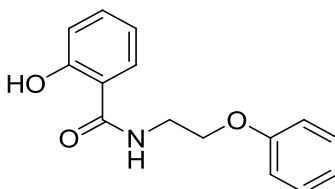
MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 171 (49); 214 (100); 321 $[\text{M}]^+$ (38)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{NO}_3$: 321,1365; gefunden: 321,1393 $[\text{M}]^+$

2-Hydroxy-<i>N</i>-(2-phenoxyethyl)benzamid (105) SCHL-24412



$\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{NO}_3$
(257,28 g/mol)

Gemäß **AAV14** aus **SCHL-24409** (351 mg; 1,17 mmol), Eisessig (25,0 ml; 0,44 mol) und 32%iger wässriger HCl-Lösung (1,0 ml; 10,3 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (283 mg; 1,10 mmol; 94 %)

Aus 2-Phenoxyethanamin und Phenylsalicylat von PARIS et al. hergestellt (86 %).^[481]

Smp.: 120 °C

^1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_{H} (ppm): 3,69 (ps q; $J = 5,7$ Hz; 2H; CH_2); 4,13 (t; $J = 5,8$ Hz; 2H; CH_2); 6,87-6,98 (m; 5H; Aryl- H); 7,27-7,31 (m; 2H; Aryl- H); 7,40 (m; 1H; Aryl- H); 7,89 (m; 1H; Aryl- H); 9,03 (t; $J = 5,3$ Hz; 1H; CONH); 12,46 (s; 1H; Aryl-OH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_{C} (ppm): 38,5 (NHCH_2); 65,6 (OCH_2); 114,4 (2x Aryl-CH); 115,2 (Aryl-C); 117,2 (Aryl-CH); 118,5 (Aryl-CH); 120,6 (Aryl-CH); 127,9 (Aryl-CH); 129,4 (2x Aryl-CH); 133,6 (Aryl-CH); 158,2 (Aryl-C); 159,6 (Aryl-C); 168,8 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm^{-1}): 3389 (m); 2949 (w); 1638 (m); 1593 (m); 1543 (m); 1488 (m); 1242 (s); 1231 (s); 752 (s)

MS (EI; 70 eV)

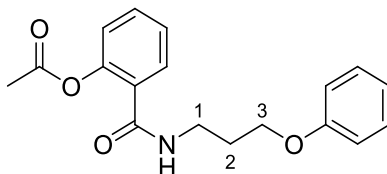
m/z (%): 121 (85); 164 (100); 257 $[\text{M}]^+$ (15)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₅H₁₅NO₃: 257,1052;

gefunden: 257,1091 [M]⁺

2-(3-Phenoxypropylcarbamoyl)phenylacetat (267) SCHL-24413



C₁₈H₁₉NO₄
(313,35 g/mol)

Gemäß **AAV5a** aus **SCHL-24410** (204 mg; 1,35 mmol), Acetylsalicylsäurechlorid (268 mg; 1,35 mmol) und Triethylamin (0,19 ml; 1,35 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (359 mg; 1,15 mmol; 85 %)

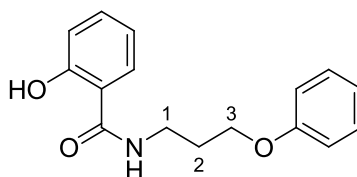
¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,94 (p; *J* = 6,6 Hz; 2H; *H*-2); 2,18 (s; 3H; CH₃); 3,36 (ps q; *J* = 6,8 Hz; 2H; *H*-1); 4,02 (t; *J* = 6,3 Hz; 2H; *H*-3); 6,90-6,95 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,16-7,34 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,45-7,58 (m; 2H; Aryl-*H*); 8,39 (t; *J* = 5,6 Hz; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 20,6 (CH₃); 28,8 (CH₂); 36,0 (CH₂); 65,1 (C-3); 114,3 (2x Aryl-CH); 120,3 (Aryl-CH); 123,0 (Aryl-CH); 125,6 (Aryl-CH); 128,7 (Aryl-CH); 129,3 (2x Aryl-CH); 129,4 (Aryl-C); 130,9 (Aryl-CH); 147,8 (Aryl-C); 158,5 (Aryl-C); 165,2 (CONH); 168,7 (COO)

2-Hydroxy-*N*-(3-phenoxypropyl)benzamid (106) SCHL-24414



C₁₆H₁₇NO₃
(271,31 g/mol)

Gemäß **AAV14** aus **SCHL-24413** (299 mg; 0,95 mmol), Eisessig (25,0 ml; 0,44 mol) und 32%iger wässriger HCl-Lösung (1,0 ml; 10,3 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (232 mg; 0,86 mmol; 91 %)

Smp.: 59 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,01 (p; *J* = 6,5 Hz; 2H; *H*-2); 3,45-3,50 (m; 2H; *H*-2); 4,03 (t; *J* = 6,2 Hz; 2H; *H*-3); 6,86-6,94 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,26-7,30 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,37-7,42 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,84-7,87 (m; 1H; Aryl-*H*); 8,89 (t; *J* = 5,4 Hz; 1H; CONH); 12,63 (s; 1H; Aryl-OH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_{C} (ppm): 28,6 (CH_2); 36,1 (CH_2); 65,1 (C-3); 114,3 (2x Aryl-CH); 115,1 (Aryl-C); 117,3 (Aryl-CH); 118,4 (Aryl-CH); 120,4 (Aryl-CH); 127,5 (Aryl-CH); 129,4 (2x Aryl-CH); 133,6 (Aryl-CH); 158,5 (Aryl-C); 160,1 (Aryl-C); 169,1 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm^{-1}): 3409 (m); 3059 (w); 2877 (w); 1639 (m); 1582 (m); 1489 (m); 1233 (s); 738 (s); 691 (m); 483 (m)

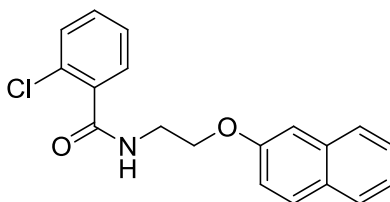
MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 121 (86); 178 (100); 271 $[\text{M}]^+$ (19)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{NO}_3$: 271,1208; gefunden: 271,1223 $[\text{M}]^+$

2-Chlor-<i>N</i>-(2-(naphthalen-2-yloxy)ethyl)benzamid (134) SCHL-24422
--



$\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{ClNO}_2$
(325,79 g/mol)

Gemäß **AAV5c** aus **SCHL-24421** (212 mg; 1,13 mmol), 2-Chlorbenzoesäurechlorid (0,14 ml; 1,13 mmol) und Triethylamin (0,16 ml; 1,13 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus
Toluol, Pentan (1:20)

Weißer FS (244 mg; 0,75 mmol; 66 %)

Smp.: 116 °C

^1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_{H} (ppm): 3,69 (ps q; $J = 5,7$ Hz; 2H; NHCH_2); 4,24 (t; $J = 5,7$ Hz; 2H; OCH_2); 7,17-7,20 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,33-7,39 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,42-7,50 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,8-7,85 (m; 3H; Aryl-*H*); 8,70 (t; $J = 5,3$ Hz; 1H; CONH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_{C} (ppm): 38,6 (NHCH_2); 66,0 (OCH_2); 106,7 (Aryl-CH); 118,7 (Aryl-CH); 123,5 (Aryl-CH); 126,3 (Aryl-CH); 126,6 (Aryl-CH); 127,0 (Aryl-CH); 127,4 (Aryl-CH); 128,4 (Aryl-CH); 128,8 (Aryl-CH); 129,2 (Aryl-C); 129,5 (Aryl-C); 129,8 (Aryl-C); 130,7 (Aryl-CH); 134,2 (Aryl-CH); 136,8 (Aryl-C); 156,3 (Aryl-C); 166,6 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm^{-1}): 3274 (m); 1645 (m); 1547 (m); 1258 (m); 1118 (m); 815 (s); 747 (s); 733 (m); 474 (m)

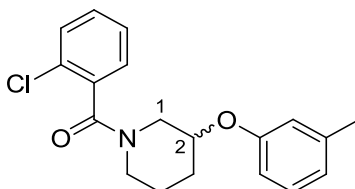
MS (ESI)

m/z (%): 326 $[\text{M}(^{35}\text{Cl})+\text{H}]^+$ (22); 343 $[\text{M}(^{35}\text{Cl})+\text{NH}_4]^+$ (100); 345 $[\text{M}(^{37}\text{Cl})+\text{NH}_4]^+$ (33)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₉H₁₆³⁵ClNO₂: 326,0948; gefunden: 326,0928 [M(³⁵Cl)+H]⁺

(*R,S*)-*N,N*-(2-(*m*-Tolyloxy))-pentamethylen-2-chlorbenzoesäureamid (130) SCHL-24430



C₁₉H₂₀ClNO₂
(329,82 g/mol)

Eine Lösung von (*R,S*)-1-*m*-Tolylpiperazin (202 mg; 1,11 mmol) und 2-Chlorbenzoesäurechlorid (0,14 ml; 1,11 mmol) in Pyridin wurde 3 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde das LM entfernt.

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 95:5)

Weißer FS (320 mg; 0,97 mmol; 87 %)

Smp.: 91 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,51-1,71 (m; 2H; CH₂); 1,86-2,04 (m; 2H; CH₂); 2,26 (s; 3H; CH₃); 3,09-3,53 und 3,97-4,05 und 4,60-4,65 (3 m; je 3H und 1H und 1H; 2x CH₂; *H*-2); 6,73-6,80 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,13-7,17 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,37-7,54 (m; 4H; Aryl-*H*)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 21,0 (CH₃); 30,0 und 30,1 (CH₂); 30,7 und 30,8 (CH₂); 38,0 (CH₂); 43,3 und 43,4 (CH₂); 71,2 und 71,3 (C-2); 112,7 (Aryl-CH); 116,5 (Aryl-CH); 121,5 (Aryl-CH); 127,5 und 127,6 (Aryl-CH); 127,7 (Aryl-CH); 129,0 (Aryl-CH); 129,2 (Aryl-CH); 129,3 und 129,4 (Aryl-CH); 130,3 (Aryl-C); 135,9 (Aryl-C); 139,0 (Aryl-C); 156,7 (Aryl-C); 165,3 und 165,4 (CON)

IR (ATR)

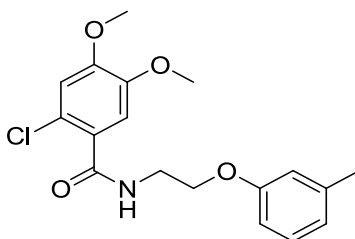
ν (cm⁻¹): 2954 (w); 2861 (w); 1627 (s); 1584 (m); 1440 (m); 1255 (s); 1150 (m); 1061 (m); 765 (s); 739 (m)

MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 330 [M(³⁵Cl)+H]⁺ (100); 332 [M(³⁷Cl)+H]⁺ (42); 347 [M(³⁵Cl)+NH₄]⁺ (33); 349 [M(³⁷Cl)+NH₄]⁺ (10)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₉H₂₁ClNO₂: 330,1261; gefunden: 330,1241 [M+H]⁺

2-Chlor-4,5-dimethoxy-*N*-(2-(*m*-tolylloxy)ethyl)benzamid (114) SCHL-24431

$C_{18}H_{20}ClNO_4$
(349,81 g/mol)

Gemäß **AAV4a** und **AAV5a** aus 2-Chlor-3,4-dimethoxybenzoesäure (208 mg; 0,96 mmol), Oxalylchlorid (0,12 ml; 1,44 mmol), **SCHL-24425** (180 mg; 0,96 mmol) und Triethylamin (0,27 ml; 1,92 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (252 mg; 0,72 mmol; 75 %)

Smp.: 112 °C

1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,27 (s; 3H; CH_3); 3,57 (ps q; $J = 5,8$ Hz; 2H; $NHCH_2$); 3,76 (s; 3H; OCH_3); 3,80 (s; 3H; OCH_3); 4,08 (t; $J = 5,9$ Hz; 2H; OCH_2); 6,74-6,78 (m; 3H; Aryl- H); 7,00-7,03 (m; 2H; Aryl- H); 7,14-7,18 (m; 1H; Aryl- H); 8,45 (t; $J = 5,5$ Hz; 1H; CONH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_C (ppm): 21,0 (CH_3); 38,7 ($NHCH_2$); 55,7 (OCH_3); 55,9 (OCH_3); 65,7 (OCH_2); 111,4 (Aryl-CH); 112,0 (Aryl-CH); 112,8 (Aryl-CH); 115,1 (Aryl-CH); 121,3 (Aryl-CH); 121,5 (Aryl-C); 128,0 (Aryl-C); 129,1 (Aryl-CH); 139,0 (Aryl-C); 147,2 (Aryl-C); 145,0 (Aryl-C); 158,4 (Aryl-C); 166,1 (CONH)

IR (ATR)

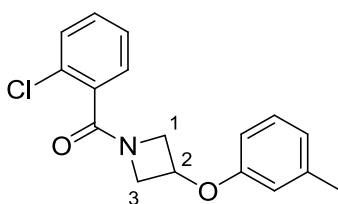
ν (cm^{-1}): 3358 (m); 1646 (m); 1598 (m); 1503 (m); 1260 (m); 1213 (s); 1158 (m); 1033 (m); 860 (m); 790 (m)

MS (ESI)

m/z (%): 350 [$M(^{35}Cl)+H$] $^+$ (100); 352 [$M(^{37}Cl)+H$] $^+$ (27); 372 [$M(^{35}Cl)+Na$] $^+$ (29); 349 [$M(^{37}Cl)+Na$] $^+$ (11)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für $C_{18}H_{21}ClNO_4$: 350,1159; gefunden: 350,1149 [$M(^{35}Cl)+H$] $^+$

***N,N*-(2-(*m*-Tolylloxy))-trimethylen-2-chlorbenzoesäureamid (129) SCHL-24433**

$C_{17}H_{16}ClNO_2$
(301,77 g/mol)

Eine Lösung von 3-(*m*-Tolyloxy)azetidin (205 mg; 1,26 mmol) und 2-Chlorbenzoesäurechlorid (0,16 ml; 1,26 mmol) in Pyridin wurde 3 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde das LM entfernt.

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 95:5)

Farbloses, harziges Öl
(316 mg; 1,05 mmol; 83 %)

¹H-NMR (CDCl₃; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,31 (s; 3H; CH₃); 4,00-4,04 und 4,24-4,31 und 4,56-4,61 (3 m; 1H und 2H und 1H; *H*-1; *H*-3); 4,97 (tt; *J* = 6,5; 4,2 Hz; 1H; *H*-2); 6,51-6,56 (m; 2H; Aryl-*H*); 6,80-6,81 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,13-7,41 (m; 5H; Aryl-*H*)

¹³C-NMR (CDCl₃; 100 MHz)

δ_C (ppm): 21,4 (CH₃); 55,5 (CH₂); 57,9 (CH₂); 65,3 (C-2); 111,2 (Aryl-CH); 115,3 (Aryl-CH); 122,6 (Aryl-CH); 127,0 (Aryl-CH); 128,4 (Aryl-CH); 129,4 (Aryl-CH); 129,8 (Aryl-CH); 130,5 (Aryl-CH); 130,8 (Aryl-C); 133,9 (Aryl-C); 139,9 (Aryl-C); 156,2 (Aryl-C); 167,9 (CON)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3057 (w); 2942 (w); 2873 (w); 1638 (s); 1584 (m); 1422 (s); 1256 (m); 1180 (m); 1156 (m); 771 (m); 748 (m); 691; (m)

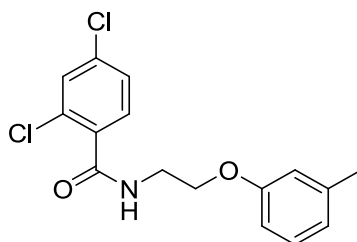
MS (ESI)

m/z (%): 302 [M(³⁵Cl)+H]⁺ (100); 304 [M(³⁷Cl)+H]⁺ (43); 319 [M(³⁵Cl)+NH₄]⁺ (95); 321 [M(³⁵Cl)+NH₄]⁺ (33)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₇H₁₇ClNO₂: 302,0948; gefunden: 302,0925 [M(³⁵Cl)+H]⁺

2,4-Dichlor-<i>N</i>-(2-(<i>m</i>-tolylloxy)ethyl)benzamid (115) SCHL-24434
--



C₁₆H₁₅Cl₂NO₂
(324,20 g/mol)

Gemäß **AAV4a** und **AAV5c** aus 2,4-Dichlorbenzoesäure (148 mg; 0,78 mmol), Oxalylchlorid (0,10 ml; 1,17 mmol), **SCHL-24425** (146 mg; 0,78 mmol) und Triethylamin (0,22 ml; 1,56 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel (Et₂O, Pentan; 99:1)

Weißer FS (189 mg; 0,58 mmol; 74 %)

Smp.: 75 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,27 (s; 3H; CH₃); 3,59 (ps q; *J* = 5,7 Hz; 2H; NHCH₂); 4,08 (t; *J* = 5,7 Hz; 2H; OCH₂); 6,73-6,78 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,14-7,18 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,42-7,49 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,66-7,67 (m; 1H; Aryl-*H*); 8,70 (t; *J* = 5,5 Hz; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 21,1 (CH₃); 38,7 (NHCH₂); 65,7 (OCH₂); 111,5 (Aryl-CH); 115,1 (Aryl-CH); 121,4 (Aryl-CH); 127,2 (Aryl-CH); 129,1 (Aryl-CH); 129,2 (Aryl-CH); 130,2 (Aryl-CH); 131,1 (Aryl-C); 134,4 (Aryl-C); 135,6 (Aryl-C); 138,9 (Aryl-C); 158,4 (Aryl-C); 165,7 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3253 (m); 2931 (w); 1651 (m); 1590 (m); 1540 (m); 1262 (m); 1176 (m); 1104 (m); 786 (s); 691 (m)

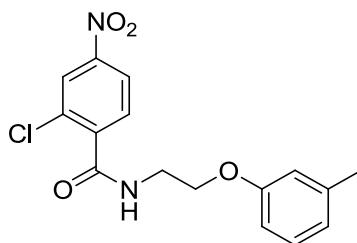
MS (ESI)

m/z (%): 324 [M(³⁵Cl;³⁵Cl)+H]⁺ (30); 326 [M(³⁷Cl;³⁵Cl)+H]⁺ (13); 341 [M(³⁵Cl;³⁵Cl)+NH₄]⁺ (100); 343 [M(³⁷Cl;³⁵Cl)+NH₄]⁺ (54); 346 [M(³⁷Cl;³⁷Cl)+NH₄]⁺ (35)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₆H₁₆Cl₂NO₂: 324,0558; gefunden: 324,0538 [M(³⁵Cl;³⁵Cl)+H]⁺

2-Chlor-4-nitro-<i>N</i>-(2-(<i>m</i>-tolylloxy)ethyl)benzamid (119) SCHL-24435
--



C₁₆H₁₅ClN₂O₄
(334,75 g/mol)

Gemäß **AAV4a** und **AAV5c** aus 2-Chlor-4-nitrobenzoesäure (220 mg; 1,09 mmol), Oxalylchlorid (0,14 ml; 1,64 mmol), **SCHL-24425** (205 mg; 1,09 mmol) und Triethylamin (0,30 ml; 2,18 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 95:5)

Weißer FS (260 mg; 0,78 mmol; 72 %)

Smp.: 94 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,28 (s; 3H; CH₃); 3,63 (ps q; *J* = 5,6 Hz; 2H; NHCH₂); 4,10 (t; *J* = 5,6 Hz; 2H; OCH₂); 6,75-6,79 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,15-7,19 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,67-7,69 (m; 1H; Aryl-*H*); 8,21-8,33 (m; 2H; Aryl-*H*); 8,93 (t; *J* = 5,5 Hz; 1H)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 21,0 (CH₃); 38,7 (NHCH₂); 65,7 (OCH₂); 111,5 (Aryl-CH); 115,1 (Aryl-CH); 121,4 (Aryl-CH); 122,3 (Aryl-CH); 124,4 (Aryl-CH); 129,2 (Aryl-CH); 129,8 (Aryl-CH);

131,0 (Aryl-C); 138,9 (Aryl-C); 142,5 (Aryl-C); 148,1 (Aryl-C); 158,3 (Aryl-C); 165,1 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3299 (w); 1645 (m); 1531 (s); 1349 (m); 1269 (m); 1176 (m); 1065 (m); 880 (m); 778 (s); 690 (m)

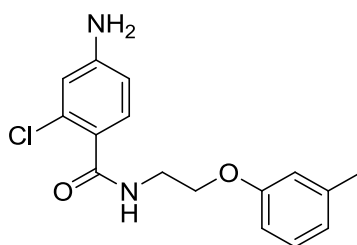
MS (ESI)

m/z (%): 352 [M(³⁵Cl)+NH₄]⁺ (100); 354 [M(³⁷Cl)+NH₄]⁺ (33); 357 [M(³⁵Cl)+Na]⁺ (44); 359 [M(³⁷Cl)+Na]⁺ (18)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₆H₁₅ClN₂O₄Na: 357,0618; gefunden: 357,0596 [M(³⁵Cl)+Na]⁺

4-Amino-2-chlor-N-(2-(*m*-tolylloxy)ethyl)benzamid (120) SCHL-24436



C₁₆H₁₇ClN₂O₂
(304,77 g/mol)

Gemäß **AAV7** aus **SCHL-24435** (305 mg; 0,91 mmol) und SnCl₂ · 2 H₂O (1,03 g; 4,55 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus
Toluol, Pentan (9:1)

Weißer FS (199 mg; 0,65 mmol; 71 %)

Smp.: 88 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,27 (s; 3H; CH₃); 3,53 (ps q; J = 5,9 Hz; 2H; NHCH₂); 4,04 (t; J = 5,9 Hz; 2H; OCH₂); 5,68 (br s; 2H; NH₂); 6,47-6,59 (m; 2H; Aryl-*H*); 6,74-6,77 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,14-7,18 (m; 2H; Aryl-*H*); 8,15 (t; J = 5,5 Hz; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 21,0 (CH₃); 38,6 (NHCH₂); 65,8 (OCH₂); 111,5 (Aryl-CH); 111,5 (Aryl-CH); 113,6 (Aryl-CH); 115,1 (Aryl-CH); 121,3 (Aryl-CH); 122,3 (Aryl-C); 129,2 (Aryl-CH); 130,4 (Aryl-CH); 131,1 (Aryl-C); 138,9 (Aryl-C); 151,1 (Aryl-C); 158,4 (Aryl-C); 166,6 (CONH)

IR (ATR)

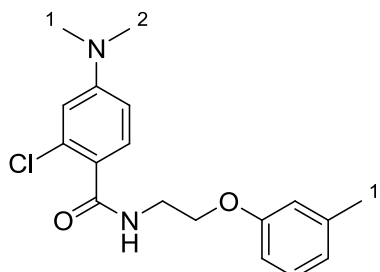
ν (cm⁻¹): 3351 (w); 3215 (w); 2941 (w); 1603 (s); 1551 (m); 1490 (m); 1290 (m); 1263 (m); 851 (m); 688 (m); 597 (s)

MS (ESI)

m/z (%): 305 [M(³⁵Cl)+H]⁺ (100); 307 [M(³⁷Cl)+H]⁺ (40); 327 [M(³⁵Cl)+Na]⁺ (27)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₆H₁₇ClN₂O₂Na: 327,0877; gefunden: 327,0862 [M(³⁵Cl)+Na]⁺

2-Chlor-4-(dimethylamino)-N-(2-(*m*-tolylloxy)ethyl)benzamid (116) SCHL-24437


C₁₈H₂₁ClN₂O₂
(332,82 g/mol)

Eine Lösung von **SCHL-24436** (150 mg; 0,49 mmol) in Acetonitril wurde mit einer 37%igen Lösung von Formaldehyd in Wasser (0,25 ml; 4,90 mmol), NaBH₃CN (92 mg; 1,47 mmol) und Eisessig (0,08 ml; 1,47 mmol) versetzt und 2h bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt, es wurde mit 1 M NaOH Lösung versetzt und dreimal mit Et₂O extrahiert. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das LM entfernt.^[482]

Reinigung: SC an Kieselgel
(Et₂O, Methanol; 99:1)

Weißer FS (141 mg; 0,42 mmol; 86 %)

Smp.: 61 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,27 (s; 3H; *H*-1'); 2,93 (s; 6H; *H*-1; *H*-2); 3,55 (ps q; *J* = 5,9 Hz; 2H; NHCH₂); 4,06 (t; *J* = 5,9 Hz; 2H; OCH₂); 6,64-6,78 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,14-7,18 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,30-7,32 (m; 1H; Aryl-*H*); 8,23 (t; *J* = 5,5 Hz; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 21,0 (*C*-1'); 38,7 (NHCH₂); 39,6 (*C*-1; *C*-2); 65,8 (OCH₂); 109,8 (Aryl-CH); 111,5 (Aryl-CH); 112,0 (Aryl-CH); 115,1 (Aryl-CH); 121,3 (Aryl-CH); 122,5 (Aryl-C); 129,2 (Aryl-CH); 130,2 (Aryl-CH); 131,4 (Aryl-C); 138,9 (Aryl-C); 151,6 (Aryl-C); 158,4 (Aryl-C); 166,5 (CONH)

IR (ATR)

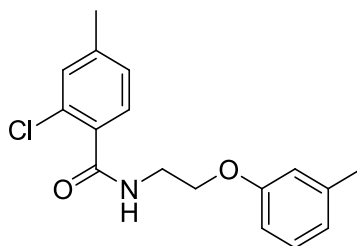
ν (cm⁻¹): 3289 (w); 2934 (w); 1609 (s); 1514 (m); 1260 (m); 1156 (s); 1061 (m); 808 (m); 764 (m); 686 (m)

MS (ESI)

m/z (%): 333 [M(³⁵Cl)+H]⁺ (100); 335 [M(³⁷Cl)+H]⁺ (48); 355 [M(³⁵Cl)+Na]⁺ (50); 357 [M(³⁷Cl)+Na]⁺ (14)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₈H₂₂ClN₂O₂: 333,1370; gefunden: 333,1392 [M(³⁵Cl)+H]⁺

2-Chlor-4-methyl-N-(2-(*m*-tolylloxy)ethyl)benzamid (117) SCHL-24438

$C_{17}H_{18}ClNO_2$
(303,78 g/mol)

Gemäß **AAV4a** und **AAV5a** aus 2-Chlor-4-methylbenzoesäure (203 mg; 1,19 mmol), Oxalylchlorid (0,15 ml; 1,79 mmol), **SCHL-24425** (223 mg; 1,19 mmol) und Triethylamin (0,33 ml; 2,38 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (195 mg; 0,64 mmol; 54 %)

Smp.: 80 °C

1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,27; (s; 3H; CH_3); 2,32 (s; 3H; CH_3); 3,58 (ps q; $J = 5,8$ Hz; 2H; $NHCH_2$); 4,07 (t; $J = 5,8$ Hz; 2H; OCH_2); 6,74-6,78 (m; 3H; Aryl- H); 7,14-7,31 (m; 4H; Aryl- H); 8,58 (t; $J = 5,5$ Hz; 1H; CONH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_C (ppm): 20,4 (CH_3); 21,1 (CH_3); 38,7 ($NHCH_2$); 65,7 (OCH_2); 111,5 (Aryl-CH); 115,1 (Aryl-CH); 121,4 (Aryl-CH); 127,5 (Aryl-CH); 128,7 (Aryl-C); 129,2 (Aryl-CH); 129,7 (Aryl-CH); 129,8 (Aryl-CH); 133,8 (Aryl-C); 138,9 (Aryl-C); 140,8 (Aryl-C); 158,4 (Aryl-C); 166,6 (CONH)

IR (ATR)

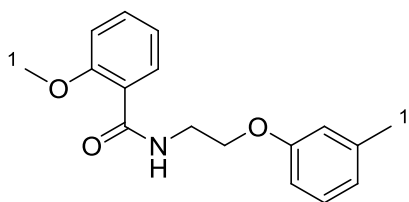
ν (cm^{-1}): 3257 (m); 3085 (w); 3052 (w); 2913 (w); 2860 (w); 1643 (s); 1558 (s); 1257 (m); 1052 (m); 689 (m)

MS (ESI)

m/z (%): 304 [$M(^{35}Cl)+H$] $^+$ (100); 306 [$M(^{37}Cl)+H$] $^+$ (36); 321 [$M(^{35}Cl)+NH_4$] $^+$ (97); 326 [$M(^{35}Cl)+Na$] $^+$ (41)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für $C_{17}H_{18}ClNO_2Na$: 326,0924; gefunden: 326,0954 [$M+Na$] $^+$

2-Methoxy-N-(2-(*m*-tolylloxy)ethyl)benzamid (112) SCHL-24441

$C_{17}H_{19}NO_3$
(285,34 g/mol)

Gemäß **AAV4a** und **AAV5c** aus 2-Methoxybenzoesäure (207 mg; 1,36 mmol), Oxalylchlorid (0,18 ml; 2,04 mmol), **SCHL-24425** (256 mg; 1,36 mmol) und Triethylamin (0,38 ml; 2,72 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 95:5)

Farbloses, harziges Öl
(315 mg; 1,10 mmol; 81 %)

¹H-NMR (CDCl₃; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,33 (s; 3H; *H*-1'); 3,93 (s; 3H; *H*-1); 3,88 (ps q; *J* = 5,5 Hz; 2H; NHCH₂); 4,15 (t; *J* = 5,2 Hz; 2H; OCH₂); 6,73-6,80 (m; 3H; Aryl-*H*); 6,95-6,97 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,05-7,20 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,42-7,48 (m; 1H; Aryl-*H*); 8,21-8,23 (m; 1H; Aryl-*H*); 8,36 (br s; 1H; CONH)

¹³C-NMR (CDCl₃; 100 MHz)

δ_C (ppm): 21,5 (*C*-1'); 39,2 (NHCH₂); 55,9 (*C*-1); 66,7 (OCH₂); 111,3 (Aryl-CH); 111,4 (Aryl-CH); 115,2 (Aryl-CH); 121,2 (Aryl-CH); 121,3 (Aryl-C); 121,8 (Aryl-CH); 129,3 (Aryl-CH); 132,2 (Aryl-CH); 132,8 (Aryl-CH); 139,6 (Aryl-C); 157,5 (Aryl-C); 158,6 (Aryl-C); 165,4 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3400 (m); 2944 (m); 1650 (s); 1599 (m); 1531 (s); 1484 (s); 1292 (m); 1239 (m); 1159 (m); 758 (m)

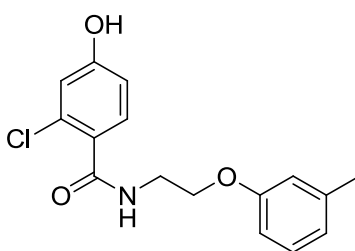
MS (ESI)

m/z (%): 286 [M+H]⁺ (100); 308 [M+Na]⁺ (22)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₇H₁₉NO₃Na: 308,1263; gefunden: 308,1291 [M+Na]⁺

2-Chlor-4-hydroxy-<i>N</i>-(2-(<i>m</i>-tolylloxy)ethyl)benzamid (118) SCHL-24442
--



C₁₆H₁₆ClNO₃
(305,76 g/mol)

Gemäß **AAV4a** und **AAV5c** aus 2-Chlor-4-hydroxybenzoesäure (209 mg; 1,21 mmol), Oxalylchlorid (0,16 ml; 1,82 mmol), **SCHL-24425** (228 mg; 1,21 mmol) und Triethylamin (0,34 ml; 2,42 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel (Et₂O)

Weißer FS (152 mg; 0,50 mmol; 41 %)

Smp.: 154 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,27 (s; 3H; CH₃); 3,55 (ps q; *J* = 5,8 Hz; 2H; NHCH₂); 4,05 (t; *J* = 5,9 Hz; 2H; OCH₂); 6,73-6,83 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,14-7,18 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,26-7,29 (m; 1H; Aryl-*H*); (t; *J* = 5,6 Hz; 1H; CONH); 10,17 (br s; 1H; Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 21,0 (CH₃); 38,7 (NHCH₂); 65,7 (OCH₂); 111,5 (Aryl-CH); 113,9 (Aryl-CH); 115,1 (Aryl-CH); 116,1 (Aryl-CH); 121,3 (Aryl-CH); 127,2 (Aryl-C); 129,2 (Aryl-CH); 130,3 (Aryl-CH); 130,9 (Aryl-C); 138,9 (Aryl-C); 158,4 (Aryl-C); 158,9 (Aryl-C); 166,4 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3277 (w); 3115 (w); 1598 (s); 1569 (m); 1492 (m); 1264 (m); 1170 (m); 1119 (m); 855 (m); 783 (m); 689 (m)

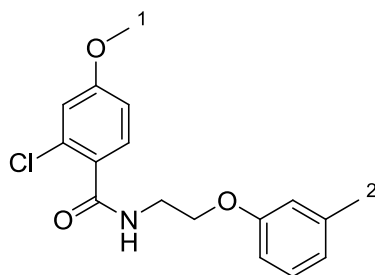
MS (ESI)

m/z (%): 306 [M(³⁵Cl)+H]⁺ (100); 308 [M(³⁷Cl)+H]⁺ (29); 328 [M(³⁵Cl)+Na]⁺ (36)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₆H₁₆ClNO₃Na: 328,0716; gefunden: 328,0723 [M(³⁵Cl)+Na]⁺

2-Chlor-4-methoxy-<i>N</i>-(2-(<i>m</i>-tolylloxy)ethyl)benzamid (113) SCHL-24462
--



C₁₇H₁₈ClNO₃
(319,78 g/mol)

Gemäß **AAV4a** und **AAV5c** aus 2-Chlor-4-methoxybenzoesäure (204 mg; 1,09 mmol), Oxalylchlorid (0,14 ml; 1,64 mmol), **SCHL-24425** (205 mg; 1,09 mmol) und Triethylamin (0,30 ml; 2,18 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 95:5)

Weißer FS (203 mg; 0,63 mmol; 58 %)

Smp.: 65 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,25 (s; 3H; *H*-2); 3,54 (ps q; *J* = 5,8 Hz; 2H; NHCH₂); 3,77 (s; 3H; *H*-1); 4,04 (t; *J* = 5,9 Hz; 2H; OCH₂); 6,71-6,75 (m; 3H; Aryl-*H*); 6,90-7,02 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,11-7,15 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,33-7,35 (m; 1H; Aryl-*H*); 8,44 (t; *J* = 5,5 Hz; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 21,0 (C-2); 38,7 (NHCH₂); 55,6 (C-1); 65,7 (OCH₂); 111,4 (Aryl-CH); 112,7 (Aryl-CH); 114,8 (Aryl-CH); 115,1 (Aryl-CH); 121,3 (Aryl-CH); 128,8 (Aryl-C); 129,1

(Aryl-CH); 130,0 (Aryl-CH); 131,1 (Aryl-C); 138,8 (Aryl-C); 158,4 (Aryl-C); 160,3 (Aryl-C); 166,2 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3343 (m); 2958 (w); 1643 (m); 1601 (m); 1490 (s); 1265 (m); 1237 (m); 1169 (m); 1024 (m); 789 (m)

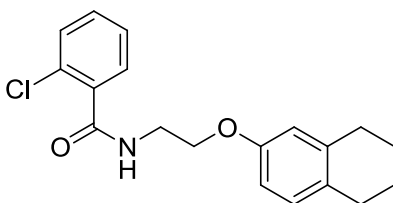
MS (ESI)

m/z (%): 320 [M(³⁵Cl)+H]⁺ (100); 322 [M(³⁷Cl)+H]⁺ (35); 342 [M(³⁵Cl)+Na]⁺ (31); 344 [M(³⁷Cl)+Na]⁺ (12)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₇H₁₉ClNO₃: 320,1054; gefunden: 320,1077 [M(³⁵Cl)+H]⁺

2-Chlor-N-(2-(5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yloxy)ethyl)benzamid (133) SCHL-24486



C₁₉H₂₀ClNO₂
(329,82 g/mol)

Gemäß **AAV5c** aus **SCHL-24482** (196 mg; 0,86 mmol), 2-Chlorbenzoesäurechlorid (0,11 ml; 0,86 mmol) und Triethylamin (0,24 ml; 1,72 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 95:5)

Weißer FS (252 mg; 0,76 mmol; 88 %)

Smp.: 65 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,68-1,72 (m; 4H; 2x CH₂); 2,63-2,68 (m; 4H; 2x CH₂); 3,56 (ps q; J = 5,8 Hz; 2H; NCH₂); 4,04 (t; J = 5,8 Hz; 2H; OCH₂); 6,64-6,69 (m; 2H; Aryl-H); 6,93-6,96 (m; 1H; Aryl-H); 7,37-7,49 (m; 4H; Aryl-H); 8,60 (t; J = 5,4 Hz; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 22,6 (CH₂); 22,9 (CH₂); 27,9 (CH₂); 29,0 (CH₂); 38,7 (NHCH₂); 65,8 (OCH₂); 112,4 (Aryl-CH); 114,2 (Aryl-CH); 127,0 (Aryl-CH); 128,6 (Aryl-CH); 128,8 (Aryl-C); 129,5 (Aryl-CH); 129,7 (Aryl-CH); 129,8 (Aryl-CH); 130,7 (Aryl-C); 136,8 (Aryl-C); 137,5 (Aryl-C); 156,1 (Aryl-C); 166,5 (CONH)

IR (ATR)

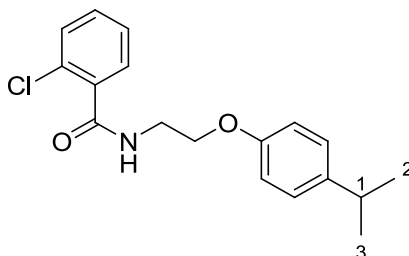
ν (cm⁻¹): 3336 (m); 2943 (m); 2926 (m); 1651 (m); 1531 (m); 1502 (m); 1264 (s); 1059 (m); 735 (s); 647 (m)

MS (ESI)

m/z (%): 330 [M(³⁵Cl)+H]⁺ (52); 332 [M(³⁷Cl)+H]⁺ (30); 347 [M(³⁵Cl)+NH₄]⁺ (100); 349 [M(³⁷Cl)+NH₄]⁺ (58); 352 [M(³⁵Cl)+Na]⁺ (59); 354 [M(³⁷Cl)+Na]⁺ (14)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₉H₂₁ClNO₂: 330,1261; gefunden: 330,1234 [M+H]⁺

2-Chlor-N-(2-(4-isopropylphenoxy)ethyl)benzamid (132) SCHL-24487


C₁₈H₂₀ClNO₂
(317,81 g/mol)

Gemäß **AAV5c** aus **SCHL-24482** (194 mg; 0,90 mmol), 2-Chlorbenzoesäurechlorid (0,11 ml; 0,90 mmol) und Triethylamin (0,25 ml; 1,80 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 95:5)

Weißer FS (240 mg; 0,76 mmol; 84 %)

Smp.: 46 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,17 (d; *J* = 6,9 Hz; 6H; *H*-2; *H*-3); 2,78-2,88 (m; 1H; *H*-1); 3,59 (ps q; *J* = 5,7 Hz; 2H; NHCH₂); 4,07 (t; *J* = 5,8 Hz; 2H; OCH₂); 6,87-6,89 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,14-7,16 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,35-7,50 (m; 4H; Aryl-*H*); 8,66 (t; *J* = 5,4 Hz; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 24,0 (*C*-2; *C*-3); 32,4 (*C*-1); 38,6 (NHCH₂); 65,9 (OCH₂); 114,3 (2x Aryl-CH); 126,9 (Aryl-CH); 127,0 (2x Aryl-CH); 128,7 (Aryl-CH); 129,4 (Aryl-CH); 129,8 (Aryl-C); 130,6 (Aryl-CH); 136,7 (Aryl-C); 140,5 (Aryl-C); 156,4 (Aryl-C); 166,4 (CON)

IR (ATR)

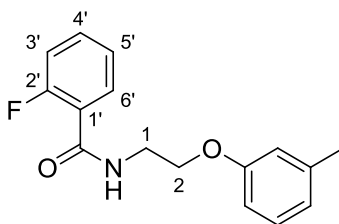
ν (cm⁻¹): 3261 (m); 2959 (m); 2869 (m); 1637 (m); 1551 (m); 1510 (m); 1305 (m); 1244 (s); 1042 (m); 828 (s); 700 (m); 543 (m)

MS (ESI)

m/z (%): 318 [M(³⁵Cl)+H]⁺ (51); 320 [M(³⁷Cl)+H]⁺ (16); 335 [M(³⁵Cl)+NH₄]⁺ (100); 337 [M(³⁷Cl)+NH₄]⁺ (37); 342 [M(³⁵Cl)+Na]⁺ (37)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₈H₂₁ClNO₂: 318,1261; gefunden: 318,1243 [M+H]⁺

2-Fluor-*N*-(2-(*m*-tolylloxy)ethyl)benzamid (108) SCHL-24488

C₁₆H₁₆FNO₂
(273,30 g/mol)

Gemäß **AAV5c** aus **SCHL-24425** (191 mg; 1,02 mmol), 2-Fluorbenzoesäurechlorid (0,12 ml; 1,02 mmol) und Triethylamin (0,28 ml; 2,04 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 95:5)

Weißer FS (222 mg; 0,81 mmol; 79 %)

Smp.: 37 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,27 (s; 3H; CH₃); 3,63 (ps q; *J* = 5,8 Hz; 2H; *H*-1); 4,09 (t; *J* = 5,9 Hz; 2H; *H*-2); 6,74-6,79 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,14-7,18 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,25-7,30 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,50-7,65 (m; 2H; Aryl-*H*); 8,46 (t; *J* = 6,1 Hz; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 21,0 (CH₃); 38,8 (C-1); 65,6 (C-2); 111,5 (Aryl-CH); 115,1 (Aryl-CH); 116,0 (d; *J*_(C,F) = -22 Hz; C-3'); 121,4 (Aryl-CH); 123,8 (d; *J*_(C,F) = -14 Hz; C-1'); 124,4 (d; *J*_(C,F) = -3 Hz; C-6'); 129,6 (Aryl-CH); 130,0 (d; *J*_(C,F) = -3 Hz; C-5'); 132,3 (d; *J*_(C,F) = -9 Hz; C-4'); 138,9 (Aryl-C); 158,4 (Aryl-C); 159,1 (d; *J*_(C,F) = -249 Hz; C-2'); 164,5 (CONH)

IR (ATR)

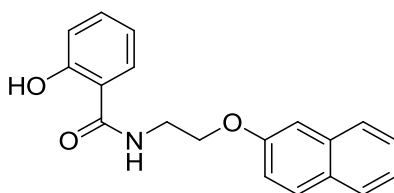
ν (cm⁻¹): 3374 (m); 2924 (w); 1644 (m); 1523 (m); 1480 (m); 1261 (s); 1166 (m); 1158 (m); 788 (m); 757 (s); 516 (m)

MS (ESI)

m/z (%): 274 [M+H]⁺ (68); 291 [M+NH₄]⁺ (100); 296,14 [M+Na]⁺ (49)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₆H₁₆FNO₂Na: 296,1063; gefunden: 296,1102 [M+Na]⁺

2-Hydroxy-*N*-(2-(naphthalen-2-yloxy)ethyl)benzamid (136) SCHL-24511

C₁₉H₁₇NO₃
(307,34 g/mol)

Gemäß **AAV4a** und **AAV5c** aus Salicylsäure (310 mg; 2,24 mmol), Oxalylchlorid (0,29 ml; 3,36 mmol), **SCHL-24421** (420 mg; 2,24 mmol) und Triethylamin (0,31 ml; 2,24 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 95:5)

Weißer FS (393 mg; 1,28 mmol; 57 %)

Smp.: 190 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 3,77 (ps q; *J* = 5,7 Hz; 2H; NHCH₂); 4,28 (t; *J* = 5,8 Hz; 2H; OCH₂); 6,88-6,93 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,18-7,20 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,32-7,47 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,79-7,91 (m; 4H; Aryl-*H*); 9,06 (t; *J* = 5,3 Hz; 1H; CONH); 12,43 (s; 1H; Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 38,6 (NHCH₂); 65,9 (OCH₂); 106,8 (Aryl-CH); 115,3 (Aryl-C); 117,3 (Aryl-CH); 118,5 (Aryl-CH); 118,6 (Aryl-CH); 123,6 (Aryl-CH); 126,3 (Aryl-CH); 126,6 (Aryl-CH); 127,4 (Aryl-CH); 127,9 (Aryl-CH); 128,5 (Aryl-CH); 129,3 (Aryl-C); 133,7 (Aryl-C); 134,2 (Aryl-CH); 156,1 (Aryl-C); 159,7 (Aryl-C); 168,9 (CO)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3386 (m); 1638 (m); 1592 (m); 1550 (m); 1337 (m); 1256 (m); 1215 (s); 1177 (m); 836 (s); 750 (s)

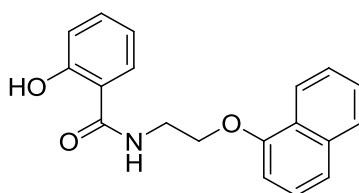
MS (ESI)

m/z (%): 208 (33); 308 [M+H]⁺ (100); 330 [M+Na]⁺ (24)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₉H₁₇NO₃: 307,1208; gefunden: 307,1196 [M]⁺

2-Hydroxy-<i>N</i>-(2-(naphthalen-1-yloxy)ethyl)benzamid (137) SCHL-24512
--



C₁₉H₁₇NO₃
(307,34 g/mol)

Gemäß **AAV4a** und **AAV5c** aus Salicylsäure (297 mg; 2,15 mmol), Oxalylchlorid (0,28 ml; 3,23 mmol), **SCHL-24525** (481 mg; 2,15 mmol) und Triethylamin (0,60 ml; 4,30 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 95:5)

Weißer FS (350 mg; 1,28 mmol; 53 %)

Smp.: 131 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 3,86 (ps q; *J* = 5,6 Hz; 2H; CH₂); 4,32 (t; *J* = 5,5 Hz; 2H; CH₂); 6,87-7,01 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,37-7,53 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,84-7,91 (m; 2H; Aryl-*H*); 8,24-8,26 (m; 1H; Aryl-*H*); 9,10 (t; *J* = 5,5 Hz; 1H; CONH); 12,44 (s; 1H; Aryl-OH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_{C} (ppm): 38,0 (NHCH₂); 66,3 (OCH₂); 105,1 (Aryl-CH); 115,4 (Aryl-C); 117,3 (Aryl-CH); 118,6 (Aryl-CH); 120,0 (Aryl-CH); 121,6 (Aryl-CH); 124,8 (Aryl-CH); 125,1 (Aryl-CH); 126,1 (Aryl-CH); 126,4 (Aryl-CH); 127,3 (Aryl-CH); 127,9 (Aryl-CH); 133,6 (Aryl-C); 133,9 (Aryl-C); 153,8 (Aryl-C); 159,7 (Aryl-C); 168,9 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3426 (w); 1638 (m); 1593 (m); 1536 (m); 1484 (m); 1270 (m); 1240 (m); 1101 (s); 752 (s)

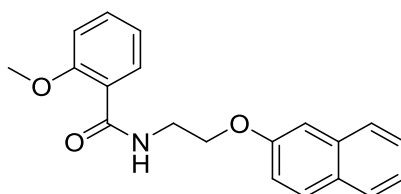
MS (ESI)

m/z (%): 308 [M+H]⁺ (100); 325 [M+NH₄]⁺ (32); 330 [M+Na]⁺ (40)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₉H₁₇NO₃: 307,1208; gefunden: 307,1180 [M]⁺

2-Methoxy-<i>N</i>-(2-(naphthalen-2-yloxy)ethyl)benzamid (135) SCHL-24513
--



C₂₀H₁₉NO₃
(321,37 g/mol)

Gemäß **AAV5a** aus **SCHL-24421** (284 mg; 1,52 mmol), 2-Methoxybenzoesäurechlorid (0,23 ml; 1,52 mmol) und Triethylamin (0,21 ml; 1,52 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (313 mg; 0,97 mmol; 64 %)

Smp.: 77 °C

^1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_{H} (ppm): 3,75 (ps q; J = 5,9 Hz; 2H; NHCH₂); 3,88 (s; 3H; CH₃); 4,25 (t; J = 5,9 Hz; 2H; OCH₂); 7,02-7,06 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,13-7,23 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,32-7,50 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,79-7,85 (m; 4H; Aryl-*H*); 8,45 (t; J = 5,5 Hz; 1H; CONH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

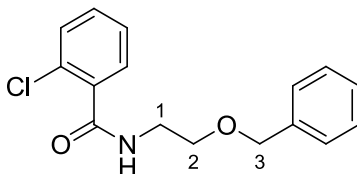
δ_{C} (ppm): 38,5 (NHCH₂); 55,8 (CH₃); 66,2 (OCH₂); 106,8 (Aryl-CH); 112,0 (Aryl-CH); 118,5 (Aryl-CH); 120,4 (Aryl-CH); 122,4 (Aryl-C); 123,5 (Aryl-CH); 126,3 (Aryl-CH); 126,6 (Aryl-CH); 127,4 (Aryl-CH); 128,4 (Aryl-CH); 129,2 (Aryl-C); 130,5 (Aryl-C); 132,3 (Aryl-CH); 134,2 (Aryl-CH); 156,2 (Aryl-C); 157,0 (Aryl-C); 165,0 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3347 (m); 1638 (m); 1525 (m); 1484 (m); 1242 (m); 1216 (s); 1023 (m); 839 (s); 754 (s); 657 (s)

MS (ESI)

m/z (%): 170 (100); 180 (39); 322 [M+H]⁺ (71); 643 [2M+H]⁺ (41)

MS (EI-HRMS)m/z berechnet für C₂₀H₁₉NO₃: 321,1365;gefunden: 321,1357 [M]⁺**N-(2-(Benzyloxy)ethyl)-2-chlorbenzamid (128) SCHL-24505**C₁₆H₁₆ClNO₂
(289,76 g/mol)

Gemäß **AAV5c** aus 2-(Benzyloxy)ethan ammoniumchlorid (190 mg; 1,01 mmol), 2-Chlorbenzoesäurechlorid (0,13 ml; 1,01 mmol) und Triethylamin (0,28 ml; 2,02 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 95:5)

Weißer FS (269 mg; 0,88 mmol; 87 %)

Im Experiment verwendet aber nicht synthetisiert oder charakterisiert von CHAKRABARTI et al.^[483]

Smp.: 29 °C**¹H-NMR** (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 3,45 (ps q; *J* = 5,8 Hz; 2H; *H*-1); 3,58 (t; *J* = 5,9 Hz; 2H; *H*-2); 4,52 (s; 2H; *H*-3); 7,26-7,45 (m; 8H; Aryl-*H*); 7,47-7,49 (m; 1H; Aryl-*H*); 8,50 (t; *J* = 5,3 Hz; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 38,9 (*C*-1); 68,1 (*C*-2); 71,8 (*C*-3); 127,0 (Aryl-CH); 127,3 (2x Aryl-CH); 127,5 (Aryl-CH); 128,1 (2x Aryl-CH); 128,7 (Aryl-CH); 129,5 (Aryl-CH); 129,8 (Aryl-CH); 130,6 (Aryl-C); 136,9 (Aryl-C); 138,4 (Aryl-C); 166,4 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3241 (m); 3062 (w); 2848 (w); 1637 (m); 1556 (m); 1310 (m); 1126 (m); 1103 (m); 735 (s); 696 (m)

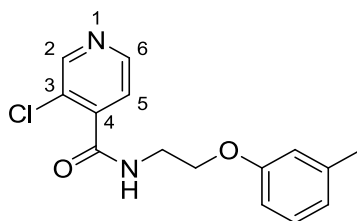
MS (ESI)

m/z (%): 290 [M(³⁵Cl)+H]⁺ (62); 292 [M(³⁷Cl)+H]⁺ (26); 307 [M(³⁵Cl)+NH₄]⁺ (100); 312 [M(³⁵Cl)+Na]⁺ (15)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₆H₁₆ClNO₂Na: 312,0767; gefunden: 312,0756 [M+Na]⁺

3-Chlor-*N*-(2-(*m*-toloxy)ethyl)isonicotinamid (122) SCHL-24444



$C_{15}H_{15}ClN_2O_2$
(290,74 g/mol)

Gemäß **AAV4a** und **AAV5c** aus 3-Chlorisonicotinsäure (210 mg; 1,33 mmol), Oxalylchlorid (0,17 ml; 2,00 mmol), **SCHL-24425** (250 mg; 1,33 mmol) und Triethylamin (0,37 ml; 2,67 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 95:5)

Farbloses, harziges Öl
(322 mg; 1,11 mmol; 83 %)

1H -NMR ($CDCl_3$; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,33 (s; 3H; CH_3); 3,88 (ps q; 5,57 Hz; 2H; $NHCH_2$); 4,15 (t; $J = 5,9$ Hz; 2H; OCH_2); 6,69-6,81 (m; 3H; Aryl-*H*); 6,91 (br s; 1H; CONH); 7,15-7,19 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,54-7,55 (m; 1H; Aryl-*H*); 8,54-8,55 (m; 1H; *H*-6); 8,63 (s; 1H; *H*-2)

^{13}C -NMR ($CDCl_3$; 100 MHz)

δ_C (ppm): 21,5 (CH_3); 39,6 ($NHCH_2$); 66,2 (OCH_2); 111,3 (Aryl-CH); 115,3 (Aryl-CH); 122,2 (Aryl-CH); 123,6 (Aryl-CH); 127,8 (Aryl-C); 129,3 (Aryl-CH); 139,7 (Aryl-C); 141,3 (Aryl-C); 148,3 (Aryl-CH); 150,4 (Aryl-CH); 158,2 (Aryl-C); 164,2 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm^{-1}): 3247 (m); 3042 (w); 2941 (w); 2872 (w); 1650 (s); 1534 (m); 1260 (s); 1157 (s); 775 (m); 690 (m)

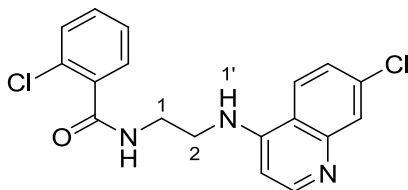
MS (ESI)

m/z (%): 291 [$M(^{35}Cl)+H$] $^+$ (86); 293 [$M(^{37}Cl)+H$] $^+$ (40); 308 [$M(^{35}Cl)+NH_4$] $^+$ (100); 310 [$M(^{37}Cl)+NH_4$] $^+$ (41)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für $C_{15}H_{15}ClN_2O_2Na$: 313,0720; gefunden: 313,0750 [$M(^{35}Cl)+Na$] $^+$

2-Chlor-*N*-(2-(7-chlorchinolin-4-ylamino)ethyl)benzamid (138) SCHL-24448



$C_{18}H_{15}Cl_2N_3O$
(360,24 g/mol)

Gemäß **AAV5a** aus **SCHL-24443** (194 mg; 0,83 mmol), 2-Chlorbenzoesäurechlorid (0,11 ml; 0,83 mmol) und Triethylamin (0,12 ml; 0,83 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (268 mg; 0,74 mmol; 89 %)

Smp.: 213 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 3,37 (br s; 1H; *H*-1'); 3,48-3,55 (m; 4H; *H*-1; *H*-2); 6,60-6,62 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,37-7,50 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,79-80 (m; 1H; Aryl-*H*); 8,19-8,21 (m; 1H; Aryl-*H*); 8,42-8,44 (m; 1H; Aryl-*H*); 8,64 (t; *J* = 5,0 Hz; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 37,7 (CH₂); 41,8 (CH₂); 98,6 (Aryl-CH); 117,3 (Aryl-C); 123,8 (Aryl-CH); 124,1 (Aryl-CH); 127,0 (Aryl-CH); 127,4 (Aryl-CH); 128,8 (Aryl-CH); 129,5 (Aryl-CH); 129,8 (Aryl-C); 130,7 (Aryl-CH); 133,3 (Aryl-C); 136,6 (Aryl-C); 148,9 (Aryl-C); 149,9 (Aryl-CH); 151,8 (Aryl-C); 166,7 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3251 (m); 1639 (m); 1579 (s); 1536 (s); 1418 (m); 1314 (m); 1229 (m); 810 (m); 749 (m); 688 (m)

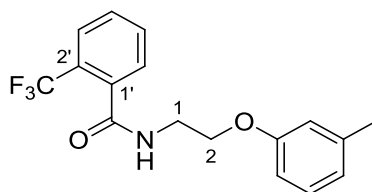
MS (ESI)

m/z (%): 360 [M(³⁵Cl;³⁵Cl)+H]⁺ (100); 362 [M(³⁷Cl;³⁵Cl)+H]⁺ (68)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₈H₁₆Cl₂N₃O: 360,0670; gefunden: 360,0705 [M(³⁵Cl;³⁵Cl)+H]⁺

***N*-(2-(*m*-Tolyloxy)ethyl)-2-(trifluormethyl)benzamid (111) SCHL-24455**



C₁₇H₁₆F₃NO₂
(323,31 g/mol)

Gemäß **AAV4a** und **AAV5c** aus 2-(Trifluormethyl)benzoesäure (199 mg; 1,05 mmol), Oxalylchlorid (0,13 ml; 1,57 mmol), **SCHL-24425** (196 mg; 1,05 mmol) und Triethylamin (0,29 ml; 2,10 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 95:5)

Weißer FS (301 mg; 0,93 mmol; 89 %)

Smp.: 75 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,28 (s; 3H; CH₃); 3,59 (ps q; *J* = 5,7 Hz; 2H; *H*-1); 4,06 (t; *J* = 5,7 Hz; 2H; *H*-2); 6,73-6,77 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,15-7,19 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,48-7,50 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,62-7,78 (m; 3H; Aryl-*H*); 8,72 (t; *J* = 5,4 Hz; 1H; CONH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_{C} (ppm): 21,0 (CH_3); 38,7 (C-1); 65,6 (C-2); 111,4 (Aryl-CH); 115,0 (Aryl-CH); 121,3 (Aryl-CH); 123,6 (q; $J_{(\text{C},\text{F})} = -270$ Hz; CF_3); 125,8 (q; $J_{(\text{C},\text{F})} = -31$ Hz; C-2'); 128,4 (Aryl-CH); 129,2 (Aryl-CH); 129,6 (Aryl-CH); 132,3 (Aryl-C); 136,3 (2x Aryl-CH); 138,9 (Aryl-C); 158,4 (Aryl-C); 167,3 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm^{-1}): 3277 (m); 2942 (w); 1638 (m); 1553 (m); 1313 (m); 1267 (m); 1170 (m); 1107 (s); 1031 (m); 779 (s)

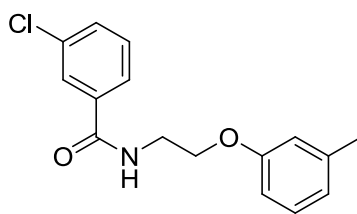
MS (ESI)

m/z (%): 324 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (15); 341 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ (100); 346 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (18)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{NO}_2\text{Na}$: 346,1031; gefunden: 346,1030 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

3-Chlor-*N*-(2-(*m*-tolylloxy)ethyl)benzamid (110) SCHL-24457



$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{ClNO}_2$
(289,76 g/mol)

Gemäß **AAV4a** und **AAV5c** aus 3-Chlorbenzoesäure (202 mg; 1,29 mmol), Oxalylchlorid (0,17 ml; 1,93 mmol), **SCHL-24425** (242 mg; 1,29 mmol) und Triethylamin (0,36 ml; 2,58 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 95:5)

Weißer FS (306 mg; 1,06 mmol; 82 %)

Smp.: 45 °C

^1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_{H} (ppm): 2,26 (s; 3H; CH_3); 3,63 (ps q; $J = 5,8$ Hz; 2H; NHCH_2); 4,10 (t; $J = 5,9$ Hz; 2H; OCH_2); 6,73-6,78 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,13-7,17 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,48-7,60 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,82-7,91 (m; 2H; Aryl-*H*); 8,80 (t; $J = 5,3$ Hz; 1H; CONH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_{C} (ppm): 21,0 (CH_3); 39,0 (NHCH_2); 65,6 (OCH_2); 111,4 (Aryl-CH); 115,0 (Aryl-CH); 121,3 (Aryl-CH); 125,9 (Aryl-CH); 127,0 (Aryl-CH); 129,2 (Aryl-CH); 130,3 (Aryl-CH); 131,0 (Aryl-CH); 133,1 (Aryl-C); 136,2 (Aryl-C); 138,9 (Aryl-C); 158,3 (Aryl-C); 165,0 (CONH)

IR (ATR)

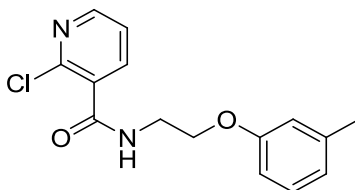
ν (cm^{-1}): 3280 (m); 3054 (w); 2939 (w); 1633 (m); 1543 (m); 1261 (m); 1172 (m); 1063 (m); 779 (m); 689 (s)

MS (ESI)

m/z (%): 290 [$M(^{35}\text{Cl})+\text{H}$]⁺ (50); 292 [$M(^{37}\text{Cl})+\text{H}$]⁺ (13); 307 [$M(^{35}\text{Cl})+\text{NH}_4$]⁺ (100); 309 [$M(^{37}\text{Cl})+\text{NH}_4$]⁺ (35)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{ClNO}_2\text{Na}$: 312,0767; gefunden: 312,0795 [$M(^{35}\text{Cl})+\text{Na}$]⁺

2-Chlor-N-(2-(*m*-tolylloxy)ethyl)nicotinamid (121) SCHL-24459


$\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}_2$
(290,74 g/mol)

Gemäß **AAV4a** und **AAV5c** aus 2-Chlornikotinsäure (207 mg; 1,32 mmol), Oxalylchlorid (0,17 ml; 1,98 mmol), **SCHL-24425** (247 mg; 1,32 mmol) und Triethylamin (0,37 ml; 2,64 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 95:5)

Farbloses, harziges Öl
(287 mg; 0,99 mmol; 75 %)

¹H-NMR (CDCl_3 ; 400 MHz)

δ_{H} (ppm): 2,32 (s; 3H; CH_3); 3,88 (ps q; $J = 5,5$ Hz; 2H; NHCH_2); 4,15 (t; $J = 5,7$ Hz; 2H; OCH_2); 6,70-6,80 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,05 (br s; 1H; CONH); 7,15-7,19 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,30-7,33 (m; 1H; Aryl-*H*); 8,05-8,08 (m; 1H; Aryl-*H*); 8,43-8,55 (m; 1H; Aryl-*H*)

¹³C-NMR (CDCl_3 ; 100 MHz)

δ_{C} (ppm): 21,5 (CH_3); 39,7 (NHCH_2); 66,2 (OCH_2); 111,3 (Aryl-CH); 115,3 (Aryl-CH); 122,1 (Aryl-CH); 122,7 (Aryl-CH); 129,3 (Aryl-CH); 131,0 (Aryl-C); 139,7 (Aryl-CH und Aryl-C); 147,2 (Aryl-C); 150,9 (Aryl-CH); 158,3 (Aryl-C); 164,7 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm^{-1}): 3271 (m); 3067 (w); 2918 (w); 2871 (w); 1646 (m); 1581 (s); 1398 (s); 1260 (m); 1158 (m); 1062 (m); 772 (m)

MS (ESI)

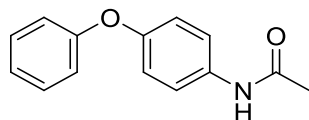
m/z (%): 291 [$M(^{35}\text{Cl})+\text{H}$]⁺ (31); 308 [$M(^{35}\text{Cl})+\text{NH}_4$]⁺ (100); 310 [$M(^{37}\text{Cl})+\text{NH}_4$]⁺ (50)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}_2\text{Na}$: 313,0720; gefunden: 313,0697 [$M(^{35}\text{Cl})+\text{Na}$]⁺

D.4.6. *N*-(4-phenoxyphenyl)-substituierte Carbonsäureamidderivate

N-(4-Phenoxyphenyl)acetamid (208) SCHL-24366



C₁₄H₁₃NO₂
(227,26 g/mol)

Gemäß **AAV5a** aus 4-Phenoxyanilin (257 mg; 1,39 mmol), Essigsäurechlorid (0,10 ml; 1,39 mmol) und Triethylamin (0,19 ml; 1,39 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (288 mg; 1,27 mmol; 91 %)

Smp.: 130 °C (Lit.: 128-129 °C)^[484]

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,03 (s; 3H; CH₃); 6,94-6,99 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,07-1,10 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,33-7,37 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,57-7,61 (m; 2H; Aryl-*H*); 9,97 (s; 1H; CONH)

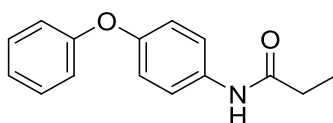
¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 23,7 (CH₃); 117,7 (2x Aryl-CH); 119,3 (2x Aryl-CH); 120,5 (2x Aryl-CH); 122,8 (Aryl-CH); 129,8 (2x Aryl-CH); 135,2 (Aryl-C); 151,3 (Aryl-C); 157,3 (Aryl-C); 167,9 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3289 (m); 3256 (m); 3067 (w); 1660 (m); 1544 (m); 1485 (m); 1238 (m); 853 (m); 752 (s); 691 (m)

N-(4-Phenoxyphenyl)propionamid (209) SCHL-24370



C₁₅H₁₅NO₂
(241,29 g/mol)

Gemäß **AAV5a** aus 4-Phenoxyanilin (260 mg; 1,41 mmol), Propionsäurechlorid (0,12 ml; 1,41 mmol) und Triethylamin (0,20 ml; 1,41 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (295 mg; 1,22 mmol; 87 %)

Smp.: 107 °C (Lit.: 105 °C)^[485]

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,09 (t; *J* = 7,6 Hz; 3H; CH₃); 2,31 (q; *J* = 7,6 Hz; 2H; CH₂); 6,94-6,98 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,07-7,11 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,33-7,37 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,59-7,62 (m; 2H; Aryl-*H*); 9,85 (s; 1H; CONH)

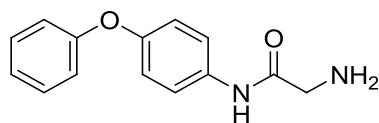
¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 9,6 (CH₃); 29,3 (CH₂); 117,7 (2x Aryl-CH); 119,3 (2x Aryl-CH); 120,6 (2x Aryl-CH); 122,8 (Aryl-CH); 129,8 (2x Aryl-CH); 135,2 (Aryl-C); 151,3 (Aryl-C); 157,3 (Aryl-C); 171,7 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3284 (m); 3037 (w); 2981 (w); 2936 (w); 1653 (m); 1485 (s); 1410 (m); 1221 (s); 835 (m); 691 (m)

2-Amino-N-(4-phenoxyphenyl)acetamid (210) SCHL-24388



C₁₄H₁₄N₂O₂
(242,27 g/mol)

Gemäß **AAV9b** aus **SCHL-24374** (240 mg; 0,70 mmol) und einer 4 N Lösung von HCl in Dioxan

Reinigung: Gemäß AAV

Weißer FS (163 mg; 0,67 mmol; 96 %)

Smp.: 123 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 3,27 (s; 3H; CH₂); 3,35 (br s; 2H; NH₂); 6,94-7,01 (m; 4H; Aryl-H); 7,07-7,11 (m; 1H; Aryl-H); 7,34-7,38 (m; 2H; Aryl-H); 7,64-7,67 (m; 2H; Aryl-H); 9,84 (br s; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 45,4 (CH₂); 117,7 (2x Aryl-CH); 119,3 (2x Aryl-CH); 120,6 (2x Aryl-CH); 122,8 (Aryl-CH); 129,8 (2x Aryl-CH); 134,7 (Aryl-C); 151,5 (Aryl-C); 157,3 (Aryl-C); 171,7 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3365 (w); 3259 (w); 3192 (w); 3031 (w); 1689 (m); 1551 (m); 1488 (m); 1226 (s); 850 (m); 737 (m)

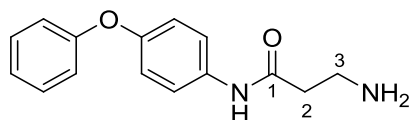
MS (EI)

m/z (%): 108 [OC₆H₄NH₂] (35); 185 [C₆H₅OC₆H₄NH₂] (96); 242 [M]⁺ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₄H₁₄N₂O₂: 242,1055; gefunden: 242,1071 [M]⁺

3-Amino-N-(4-phenoxyphenyl)propanamid (211) SCHL-24395



C₁₅H₁₆N₂O₂
(256,30 g/mol)

Gemäß **AAV9b** aus **SCHL-24392** (304 mg; 0,85 mmol) und einer 4 N Lösung von HCl in Dioxan

Reinigung: Gemäß AAV

Weißer FS (198 mg; 0,77 mmol; 91 %)

Smp.: 145 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,39 (t; *J* = 6,6 Hz; 2H; *H*-2); 2,84 (t; *J* = 6,4 Hz; 2H; *H*-3); 6,94-7,10 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,33-7,37 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,60-7,62 (m; 2H; Aryl-*H*); 10,00 (br s; 1H; CONH)

Das Signal für die N-H₂ Atome konnte nicht detektiert werden

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 38,1 (CH₂); 40,0 (CH₂); 117,6 (2x Aryl-CH); 119,3 (2x Aryl-CH); 120,6 (2x Aryl-CH); 122,7 (Aryl-CH); 129,8 (2x Aryl-CH); 135,2 (Aryl-C); 151,3 (Aryl-C); 157,3 (Aryl-C); 170,2 (C-1)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3289 (m); 3038 (w); 2931 (w); 2874 (w); 1649 (s); 1500 (s); 1487 (s); 1234 (s); 737 (s); 690 (s)

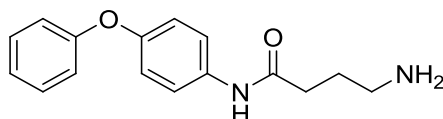
MS (EI)

m/z (%): 108 [OC₆H₄NH₂] (29); 185 [C₆H₅OC₆H₄NH₂] (90); 256 [M]⁺ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₅H₁₆N₂O₂: 256,1212; gefunden: 256,1203 [M]⁺

4-Amino-N-(4-phenoxyphenyl)butanamid (212) SCHL-24396
--



C₁₆H₁₈N₂O₂
(270,33 g/mol)

Gemäß **AAV9b** aus **SCHL-24393** (285 mg; 0,77 mmol) und einer 4 N Lösung von HCl in Dioxan

Reinigung: Gemäß AAV

Weißer FS (187 mg; 0,69 mmol; 90 %)

Smp.: 255 °C (Zers.)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,80-1,91 (m; 2H; CH₂); 2,39-2,48 (m; 2H; CH₂); 2,78-2,88 (m; 2H; CH₂); 6,91-7,08 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,30-7,34 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,64-7,66 (m; 2H; Aryl-*H*); 10,11 (s; 1H; CONH)

Das Signal für die NH₂ Atome konnte nicht detektiert werden

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 31,6 (CH₂); 33,5 (CH₂); 40,4 (CH₂); 117,5 (2x Aryl-CH); 119,2 (2x Aryl-CH); 120,7 (2x Aryl-CH); 122,6 (Aryl-CH); 129,8 (2x Aryl-CH); 135,3 (Aryl-C); 151,2 (Aryl-C); 157,4 (Aryl-C); 170,6 (CONH)

IR (ATR)

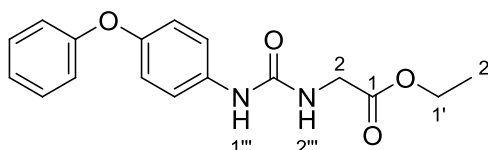
ν (cm⁻¹): 3274 (w); 3054 (w); 2993 (w); 1654 (m); 1506 (m); 1487 (m); 1226 (m); 1070 (s); 842 (m); 604 (m)

MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 185 [C₆H₅OC₆H₄NH₂] (100); 270 [M]⁺ (8)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₆H₁₈N₂O₂: 270,136828; gefunden: 270,1402 [M]⁺

Ethyl-2-(3-(4-phenoxyphenyl)ureido)acetat (200) SCHL-24368


C₁₇H₁₈N₂O₄
(314,34 g/mol)

Die Reaktion wurde unter Inertgas durchgeführt. Eine auf 0 °C gekühlte Lösung von Glycine-ethylester Hydrochlorid (476 mg; 3,41 mmol), Triethylamin (0,48 ml; 3,41 mmol) und CDI (608 mg; 3,75 mmol) in DCM wurde 10 min bei RT gerührt, anschließend mit 4-Phenoxyanilin (632 mg; 3,41 mmol) versetzt und 48 h bei RT gerührt. Es wurde mit einer 1 M HCl-Lösung gewaschen und das LM entfernt.

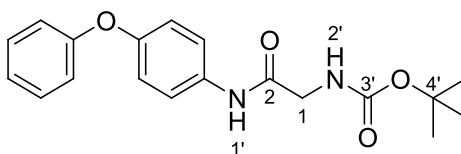
Weitere Reinigung: Umkristallisation aus Toluol Weißer FS (501 mg; 1,59 mmol; 47 %)
 Aus 2-Isocyanatoessigsäureethylester und 4-Phenoxyanilin in DCM von BALAVOINE et al. hergestellt (94 %).^[486]

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,20 (t; J = 7,1 Hz; 3H; H -2'); 3,86 (d; J = 5,9 Hz; 2H; H -2); 4,11 (q; J = 7,1 Hz; 2H; H -1'); 6,43 (t; J = 5,9 Hz; 1H; H -2'''); 6,92-6,95 (m; 4H; Aryl- H); 7,05-7,08 (m; 1H; Aryl- H); 7,32-7,43 (m; 4H; Aryl- H); 8,83 (s; 1H; H -1''')

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 14,1 (CH₃); 41,3 (C-2); 60,3 (C-1'); 117,4 (2x Aryl-CH); 119,3 (2x Aryl-CH); 119,8 (2x Aryl-CH); 122,6 (Aryl-CH); 129,8 (2x Aryl-CH); 136,3 (Aryl-C); 150,0 (Aryl-C); 155,2 (CONH); 157,7 (Aryl-C); 170,8 (C-1)

tert-Butyl-2-oxo-2-(4-phenoxyphenylamino)ethylcarbamate (268) SCHL-24374


C₁₉H₂₂N₂O₄
(342,39 g/mol)

Gemäß **AAV6** aus 4-Phenoxyanilin (195 mg; 1,05 mmol), *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)glycin (184 mg; 1,05 mmol), EDC (242 mg; 1,26 mmol) und HOBt (171 mg; 1,26 mmol)

Reinigung: Gemäß AAV

Weißer FS (346 mg; 1,01 mmol; 96 %)

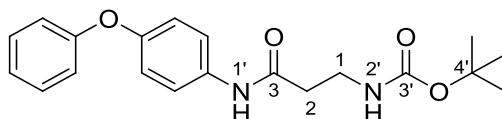
¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,40 (s; 9H; 3x CH₃); 3,72 (d; *J* = 6,1 Hz; 2H; *H*-1); 6,94-7,00 (m; 5H; Aryl-*H*; *H*-2'); 7,07-7,11 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,33-7,38 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,58-7,62 (m; 2H; Aryl-*H*); 9,93 (s; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 28,2 (3x CH₃); 43,7 (C-1); 78,0 (C-4'); 117,8 (2x Aryl-CH); 119,5 (2x Aryl-CH); 120,7 (2x Aryl-CH); 122,9 (Aryl-CH); 129,9 (2x Aryl-CH); 134,9 (Aryl-C); 151,5 (Aryl-C); 155,9 (C-3'); 157,3 (Aryl-C); 168,0 (C-2)

***tert*-Butyl-3-oxo-3-(4-phenoxyphenylamino)propylcarbamate (269) SCHL-24392**



C₂₀H₂₄N₂O₄
(356,42 g/mol)

Gemäß **AAV6** aus 4-Phenoxyanilin (180 mg; 0,97 mmol), 3-(*tert*-butoxycarbonylamino)propansäure (222 mg; 0,97 mmol), EDC (223 mg; 1,16 mmol) und HOBt (157 mg; 1,16 mmol)

Reinigung: Gemäß AAV

Weißer FS (325 mg; 0,91 mmol; 94 %)

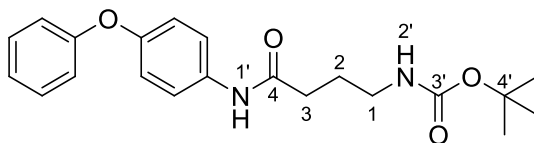
¹H-NMR (CDCl₃; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,43 (s; 9H; 3x CH₃); 2,60 (t; *J* = 5,8 Hz; 2H; *H*-2); 3,50 (ps q; *J* = 5,8 Hz; 2H; *H*-1); 5,21 (br s; 1H; *H*-2'); 7,00-7,10 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,30-7,51 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,92 (br s; 1H; *H*-1')

¹³C-NMR (CDCl₃; 100 MHz)

δ_C (ppm): 28,4 (3x CH₃); 36,4 (CH₂); 37,5 (CH₂); 79,7 (C-4'); 118,4 (2x Aryl-CH); 119,6 (2x Aryl-CH); 121,6 (2x Aryl-CH); 123,0 (Aryl-CH); 129,7 (2x Aryl-CH); 133,3 (Aryl-C); 153,4 (Aryl-C); 156,4 (C-3'); 157,5 (Aryl-C); 169,6 (C-3)

***tert*-Butyl-4-oxo-4-(4-phenoxyphenylamino)butylcarbamate (270) SCHL-24393**



C₂₁H₂₆N₂O₄
(370,44 g/mol)

Gemäß **AAV6** aus 4-Phenoxyanilin (176 mg; 0,97 mmol), 4-(*tert*-Butoxycarbonyl-amino)butansäure (194 mg; 0,95 mmol), EDC (219 mg; 1,14 mmol) und HOBt (154 mg; 1,14 mmol)

Reinigung: Gemäß AAV

Weißer FS (300 mg; 0,81 mmol; 85 %)

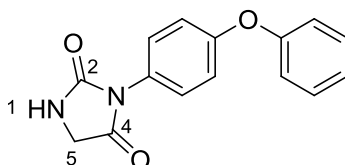
¹H-NMR (CDCl₃; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,46 (s; 9H; 3x CH₃); 1,86 (m; 2H; CH₂); 2,36-2,40 (m; 2H; CH₂); 3,26 (ps q; *J* = 6,0 Hz; 2H; *H*-1); 4,83 (t; *J* = 6,6 Hz; 1H; *H*-2'); 6,96-7,08 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,29-7,33 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,58-7,60 (m; 2H; Aryl-*H*); 8,89 (br s; 1H; *H*-1')

¹³C-NMR (CDCl₃; 100 MHz)

δ_C (ppm): 27,5 (CH₂); 28,4 (3x CH₃); 34,5 (CH₂); 39,2 (CH₂); 79,9 (C-4'); 118,2 (2x Aryl-CH); 119,7 (2x Aryl-CH); 121,3 (2x Aryl-CH); 122,8 (Aryl-CH); 129,6 (2x Aryl-CH); 134,2 (Aryl-C); 152,9 (Aryl-C); 157,3 (C-3'); 157,8 (Aryl-C); 171,1 (C-4)

3-(4-Phenoxyphenyl)imidazolidine-2,4-dione (201) SCHL-24385
--



C₁₅H₁₂N₂O₃
(268,27 g/mol)

Eine Lösung von **SCHL-24368** (400 mg; 1,27 mmol) in einem Gemisch von gleichen Teilen Aceton und 6 M HCl-Lösung wurde 2 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde mit dem dreifachen Volumen H₂O versetzt und der entstandene FS abgetrennt.^[487]

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (297 mg; 1,04 mmol; 82 %)

Unter denselben Reaktionsbedingungen von BALAVOINE et al. hergestellt (93 %).^[486]

Smp.: 223 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 4,06 (d; *J* = 0,8 Hz; 2H; *H*-5); 7,06-7,10 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,16-7,20 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,32-7,33 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,40-7,44 (m; 2H; Aryl-*H*); 8,3 (br s; 1H; *H*-1)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

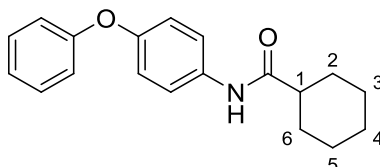
δ_C (ppm): 45,9 (C-5); 118,3 (2x Aryl-CH); 118,9 (2x Aryl-CH); 123,7 (Aryl-CH); 127,2 (Aryl-C); 128,3 (2x Aryl-CH); 130,0 (2x Aryl-CH); 156,0 (Aryl-C); 156,1 (Aryl-C); 156,4 (C-2); 171,0 (C-4)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3285 (w); 3072 (w); 1777 (w); 1699 (m); 1486 (m); 1422 (m); 1253 (s); 1163 (m); 836 (m)

MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 77 (18); 211 (74); 268 [M]⁺ (100)

MS (EI-HRMS)m/z berechnet für C₁₅H₁₂N₂O₃: 268,0848;gefunden: 268,0848 [M]⁺**N-(4-Phenoxyphenyl)cyclohexancarbamid (221) SCHL-24535**C₁₉H₂₁NO₂
(295,38 g/mol)

Gemäß **AAV4a** und **AAV5a** aus Cyclohexancarbonsäure (187 mg; 1,46 mmol), Oxalylchlorid (0,19 ml; 2,19 mmol), 4-Phenoxyanilin (270 mg; 1,46 mmol) und Triethylamin (0,20 ml; 1,46 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (417 mg; 1,41 mmol; 97 %)

Smp.: 135 °C**¹H-NMR** (DMSO-d₆; 400 MHz)

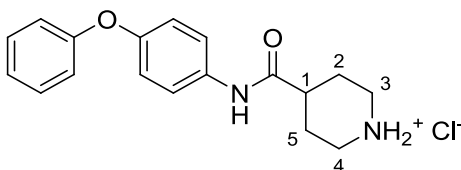
δ_H (ppm): 1,15-1,45 und 1,64-1,80 (2 m; je 5H; *H*-2; *H*-3; *H*-4; *H*-5; *H*-6); 2,31 (tt; *J* = 11,7; 3,4 Hz; 1H; *H*-1); 6,93-6,98 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,07-7,10 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,33-7,37 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,60-7,63 (m; 2H; Aryl-*H*); 8,79 (br s; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 25,1 (*C*-3; *C*-5); 25,3 (*C*-5); 29,0 (*C*-2; *C*-6); 44,7 (*C*-1); 117,6 (2x Aryl-CH); 119,3 (2x Aryl-CH); 120,6 (2x Aryl-CH); 122,7 (Aryl-CH); 129,8 (2x Aryl-CH); 135,4 (Aryl-C); 151,2 (Aryl-C); 157,4 (Aryl-C); 173,9 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3283 (m); 2927 (m); 2851 (w); 1652 (m); 1534 (m); 1487 (m); 1223 (s); 1103 (w); 961 (w); 831 (m); 691 (m); 521 (m)

MS (ESI)m/z (%): 296 [M+H]⁺ (57); 313 [M+NH₄]⁺ (100); 318 [M+Na]⁺ (35)**MS** (EI-HRMS)m/z berechnet für C₁₉H₂₁NO₂: 295,1572;gefunden: 295,1572 [M]⁺**4-(4-Phenoxyphenylcarbamoyl)piperidiniumchlorid (217) SCHL-24519**C₁₈H₂₁ClN₂O₂
(332,82 g/mol)

Gemäß **AAV9b** aus **SCHL-24377** (252 mg; 0,64 mmol) und einer 4 N Lösung von HCl in Dioxan

Reinigung: Gemäß AAV

Weißer FS (202 mg; 0,61 mmol; 95 %)

Smp.: 233 °C

¹H-NMR (D₂O; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,82-2,06 und 3,01-3,08 und 3,46-3 (3 m; je 4H und 2H und 2H; *H*-2; *H*-3; *H*-4; *H*-5); 2,69 (tt; *J* = 11,4; 3,7 Hz; 1H; *H*-1); 6,83-7,00 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,17-7,34 (m; 4H; Aryl-*H*)

¹³C-NMR (D₂O; 100 MHz)

δ_C (ppm): 25,1 (*C*-2; *C*-5); 40,4 (*C*-1); 43,2 (*C*-3; *C*-4); 118,6 (2x Aryl-CH); 119,4 (2x Aryl-CH); 123,6 (2x Aryl-CH); 123,7 (Aryl-CH); 130,1 (2x Aryl-CH); 132,6 (Aryl-*C*); 154,0 (Aryl-*C*); 156,9 (Aryl-*C*); 174,6 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3476 (w); 3245 (w); 2942 (m); 2796 (m); 2728 (m); 2513 (w); 1661 (m); 1548 (m); 1505 (s); 1488 (s); 1228 (s); 741 (m)

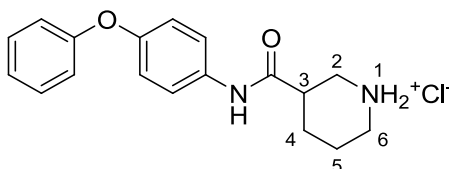
MS (ESI)

m/z (%): 297 [M(Base)+H]⁺ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₈H₂₀N₂O₂: 296,1525; gefunden: 296,1500 [M(Base)]⁺

3-(4-Phenoxyphenylcarbamoyl)piperidiniumchlorid (236) SCHL-24537



C₁₈H₂₁ClN₂O₂
(332,82 g/mol)

Gemäß **AAV9b** aus **SCHL-24536** (253 mg; 0,64 mmol) und einer 4 N Lösung von HCl in Dioxan

Reinigung: Gemäß AAV

Weißer FS (190 mg; 0,57 mmol; 89 %)

Als freie Base aus *N*-(4-Phenoxyphenyl)nicotinamid und Natrium in Ethanol von *Ciba* hergestellt (keine Ausbeute angegeben)^[488]

Smp.: 228 °C

¹H-NMR (D₂O; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,86-2,23 und 3,16-3,43 und 3,51-3,55 (3 m; je 4H und 3H und 1H; *H*-2; *H*-4; *H*-5; *H*-6); 3,00-3,07 (m; 1H; *H*-3); 7,11-7,14 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,25-7,29 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,46-7,51 (m; 4H; Aryl-*H*)

^{13}C -NMR (D_2O ; 100 MHz)

δ_{C} (ppm): 20,6 (C-5); 25,7 (C-4); 39,4 (C-6); 43,9 (C-3); 44,7 (C-2); 118,7 (2x Aryl-CH); 119,4 (2x Aryl-CH); 123,9 (Aryl-CH); 124,0 (2x Aryl-CH); 130,1 (2x Aryl-CH); 132,0 (Aryl-C); 154,3 (Aryl-C); 156,8 (Aryl-C); 173,3 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm^{-1}): 3265 (w); 2930 (w); 2787 (m); 2507 (w); 1684 (m); 1546 (s); 1505 (s); 1488 (s); 1217 (s); 852 (m); 687 (m)

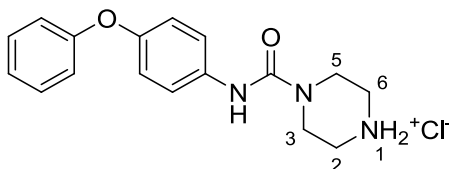
MS (ESI)

m/z (%): 297 $[\text{M}(\text{Base})+\text{H}]^+$ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$: 296,1525; gefunden: 296,1519 $[\text{M}(\text{Base})]^+$

4-(4-Phenoxyphenylcarbamoyl)piperaziniumchlorid (238) SCHL-24545



$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{ClN}_3\text{O}_2$
(333,81 g/mol)

Eine Suspension von **SCHL-24531** (205 mg; 0,52 mmol) in einer 4 N Lösung von HCl in Dioxan wurde 36 h bei RT gerührt. Der entstandene FS wurde abgetrennt.

Reinigung: Waschen mit Et_2O

Weißer FS (170 mg; 0,61 mmol; 98 %)

Als freie Base aus *tert*-Butyl-4-(4-phenoxyphenylcarbamoyl)piperazin-1-carboxylat und Trifluoressigsäure in DCM von MATSUNO et al. hergestellt (Keine Ausbeute angegeben).^[489]

Smp.: 280 °C

^1H -NMR (DMSO-d_6 ; 400 MHz)

δ_{H} (ppm): 3,09-3,12 (m; 4H; *H*-2; *H*-6); 3,69-3,72 (m; 4H; *H*-3; *H*-5); 6,93-6,95 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,06-7,10 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,33-7,37 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,47-7,51 (m; 2H; Aryl-*H*); 8,87 (s; 1H; CONH); 9,4 (br s; 2H; *H*-1)

^{13}C -NMR (DMSO-d_6 ; 100 MHz)

δ_{C} (ppm): 40,7 (C-2; C-6); 42,3 (C-3; C-5); 117,5 (2x Aryl-CH); 119,1 (2x Aryl-CH); 121,3 (2x Aryl-CH); 122,6 (Aryl-CH); 129,8 (2x Aryl-CH); 136,0 (Aryl-C); 150,8 (Aryl-C); 154,7 (CONH); 157,5 (Aryl-C)

IR (ATR)

ν (cm^{-1}): 3289 (w); 2928 (w); 2920 (w); 2485 (w); 1633 (m); 1533 (m); 1505 (m); 1489 (m); 1427 (m); 1197 (s); 1025 (m); 747 (m)

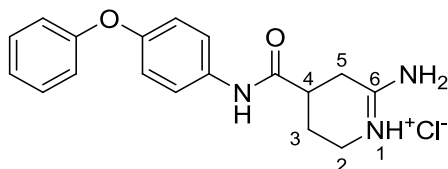
MS (ESI)

m/z (%): 298 $[\text{M}(\text{Base})+\text{H}]^+$ (100)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₇H₁₉N₃O₂: 297,1477; gefunden: 297,1484 [M(Base)]⁺

6-Amino-4-(4-phenoxyphenylcarbamoyl)-2,3,4,5-tetrahydropyridiniumchlorid (235)
SCHL-24553



C₁₈H₂₀ClN₃O₂
 (345,82 g/mol)

Die Reaktion wurde unter Inertgas durchgeführt. Eine Lösung von **SCHL-24548** (402 mg; 2,25 mmol) und Oxalylchlorid (2,00 ml; 23,3 mmol) in Toluol wurden 1 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde überschüssiges Oxalylchlorid mit dem LM entfernt. Der Rückstand wurde mit einer Lösung von 4-Phenoxyanilin (834 mg; 4,50 mmol) in Toluol versetzt und 2 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde unter Rühren tropfenweise mit ausreichend Triethylamin versetzt, bis sich der vorher entstandene FS nicht weiter löste. Der restliche FS wurde abgetrennt.

Reinigung: Umkristallisation aus Ethanol

Weißer FS (686 mg; 1,98 mmol; 88 %)

Smp.: 226 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,86-1,95 und 2,05-2,12 und 2,72-2,74 und 3,30-3,34 (4 m; je 1H und 1H und 2H und 2H; *H*-2; *H*-3; *H*-5); 3,04-3,11 (m; 1H; *H*-4); 6,94-6,99 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,07-7,11 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,34-7,38 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,66-7,68 (m; 2H; Aryl-*H*); 8,57 und 8,89 (2 s; je 1H und 1H; NH₂); 9,71 (s; 1H; *H*-1); 10,57 (s; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 24,2 (*C*-3); 27,5 (*C*-5); 35,8 (*C*-4); 39,3 (*C*-2); 117,7 (2x Aryl-CH); 119,4 (2x Aryl-CH); 120,8 (2x Aryl-CH); 122,9 (Aryl-CH); 129,9 (2x Aryl-CH); 134,9 (Aryl-C); 151,6 (Aryl-C); 157,3 (Aryl-C); 166,0 (*C*-6); 171,0 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 2929 (w); 2869 (w); 1677 (m); 1503 (m); 1486 (m); 1404 (w); 1226 (s); 1176 (w); 849 (m); 688 (m)

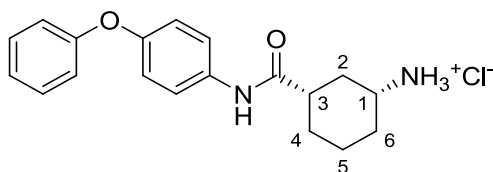
MS (ESI)

m/z (%): 310 [M(Base)]⁺

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₈H₂₀ClN₃O₂: 309,1477; gefunden: 309,1457 [M(Base)]⁺

(1R,3S)-3-(4-Phenoxyphenylcarbamoyl)cyclohexan ammoniumchlorid (237)
SCHL-24546



$C_{19}H_{23}ClN_2O_2$
 (346,85 g/mol)

Gemäß **AAV9b** aus **SCHL-24544** (260 mg; 0,63 mmol) und einer 4 N Lösung von HCl in Dioxan

Reinigung: Gemäß AAV

Weißer FS (206 mg; 0,59 mmol; 94 %)

Smp.: 232 °C

1H -NMR (D_2O ; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,34-1,53 und 1,60-1,69 und 1,85 bis 2,25 (3m; je 3H und 1H und 4H; *H*-2; *H*-4; *H*-5; *H*-6); 2,53-2,60 (m; 1H; *H*-3); 3,3-3,38 (m; 1H; *H*-1); 6,88-6,90 (m; 4H; Aryl-*H*); 6,99-7,03 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,21-7,25 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,39-7,41 (m; 2H; Aryl-*H*)

^{13}C -NMR (D_2O ; 100 MHz)

δ_C (ppm): 23,0 (CH_2); 28,1 (CH_2); 29,5 (CH_2); 32,3 (CH_2); 43,4 (*C*-3); 49,4 (*C*-1); 118,4 (2x Aryl-CH); 119,3 (2x Aryl-CH); 123,2 (2x Aryl-CH); 123,5 (Aryl-CH); 129,9 (2x Aryl-CH); 132,7 (Aryl-*C*); 153,7 (Aryl-*C*); 156,8 (Aryl-*C*); 175,5 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm^{-1}): 3328 (w); 2863 (m); 2532 (w); 2040 (w); 1658 (m); 1522 (s); 1488 (s); 1406 (m); 1222 (s); 849 (m); 689 (m)

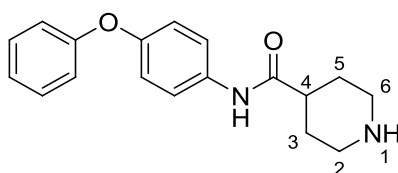
MS (ESI)

m/z (%): 311 [M (Base)+ H] $^+$ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für $C_{19}H_{22}N_2O_2$: 310,1681; gefunden: 310,1664 [M (Base)] $^+$

***N*-(4-Phenoxyphenyl)piperidin-4-carbamid (271) SCHL-24378**



$C_{18}H_{20}N_2O_2$
 (296,36 g/mol)

SCHL-24519 (201 mg; 0,60 mmol) wurde mit einer 1 M NaOH-Lösung versetzt und dreimal mit Et_2O extrahiert. Die organische Phase wurde über $MgSO_4$ getrocknet, und das LM entfernt.

Keine weitere Reinigung

Weißer FS (311 mg; 1,04 mmol; 98 %)

Smp.: 112 °C

¹H-NMR (CDCl₃; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,69-1,79 und 1,91-1,94 (2 m; je 2H und 2H; *H*-3; *H*-5); 2,10-2,32 (m; 1H; *H*-1); 2,39 (tt; *J* = 11,5; 3,5 Hz; 1H; *H*-4); 2,65-2,71 und 3,18-3,21 (2 m; je 2H und 2H; *H*-2; *H*-6); 6,96-7,09 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,29-7,33 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,41 (br s; 1H; CONH); 7,47-7,50 (m; 2H; Aryl-*H*)

¹³C-NMR (CDCl₃; 100 MHz)

δ_C (ppm): 29,8 (*C*-3; *C*-5); 44,7 (*C*-4); 45,9 (*C*-2; *C*-6); 118,3 (2x Aryl-CH); 119,6 (2x Aryl-CH); 121,6 (2x Aryl-CH); 123,0 (Aryl-CH); 129,7 (2x Aryl-CH); 133,4 (Aryl-C); 153,4 (Aryl-C); 157,5 (Aryl-C); 173,1 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3250 (w); 3040 (w); 2925 (w); 2819 (w); 1655 (m); 1589 (w); 1533 (m); 1687 (s); 1225 (s); 834 (m); 690 (m)

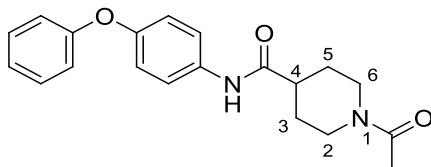
MS (ESI)

m/z (%): 297 [M+H]⁺ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₈H₂₀N₂O₂: 296,1525; gefunden: 296,1500 [M]⁺

1-Acetyl-<i>N</i>-(4-phenoxyphenyl)piperidin-4-carbamid (218) SCHL-24380



C₂₀H₂₂N₂O₃
(338,40 g/mol)

Gemäß **AAV5a** aus **SCHL-24519** (391 mg; 1,18 mmol), Essigsäurechlorid (0,08 ml; 1,18 mmol) und Triethylamin (0,33 ml; 2,35 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (362 mg; 1,07 mmol; 91 %)

Smp.: 148 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,38-1,63 und 1,77-1,82 (2 m; je 2H und 2H; *H*-3; *H*-5); 2,01 (s; 3H; CH₃); 2,53-2,60 und 3,02-3,09 und 3,85-3,88 und 4,39-4,42 (4 m; je 2H und 1H und 1H und 1H; *H*-2; *H*-4; *H*-6); 6,93-7,11 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,34-7,38 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,61-7,63 (m; 2H; Aryl-*H*); 9,96 (s; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 21,3 (CH₃); 28,1 (CH₂); 28,7 (CH₂); 40,2 (CH₂); 42,5 (*C*-4); 45,2 (CH₂); 117,7 (2x Aryl-CH); 119,4 (2x Aryl-CH); 120,7 (2x Aryl-CH); 122,8 (Aryl-CH); 129,9 (2x Aryl-CH); 135,2 (Aryl-C); 151,4 (Aryl-C); 157,3 (Aryl-C); 168,0 (CON); 172,7 (CONH)

IR (ATR)

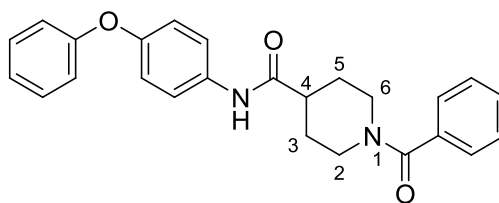
ν (cm⁻¹): 3300 (w); 2929 (w); 2858 (w); 1640 (s); 1590 (w); 1509 (m); 1448 (m); 1228 (m); 1183 (m); 837 (m); 690 (m)

MS (ESI)

m/z (%): 339 [M+H]⁺ (21); 356 [M+NH₄]⁺ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₂₀H₂₂N₂O₃: 338,1639; gefunden: 338,1645 [M]⁺

1-Benzoyl-*N*-(4-phenoxyphenyl)piperidin-4-carbamid (219) SCHL-24381


C₂₅H₂₄N₂O₃
(400,47 g/mol)

Gemäß **AAV5a** aus **SCHL-24519** (281 mg; 0,84 mmol), Benzoessäurechlorid (0,10 ml; 0,84 mmol) und Triethylamin (0,23 ml; 1,69 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (240 mg; 0,60 mmol; 71 %)

Smp.: 137 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,60-1,91 (m; 4H; *H*-3; *H*-5); 2,62 (tt; *J* = 12,0; 3,8 Hz; 1H; *H*-4); 2,85-3,10 und 3,61-4,53 (2 m; 4H; *H*-2; *H*-6); 6,94-7,11 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,33-7,61 (m; 9H; Aryl-*H*); 9,98 (s; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 28,2 (CH₂); 28,6 (CH₂); 41,0 (CH₂); 42,6 (C-4); 46,6 (CH₂); 117,6 (2x Aryl-CH); 119,3 (2x Aryl-CH); 120,7 (2x Aryl-CH); 122,8 (Aryl-CH); 126,5 (2x Aryl-CH); 128,3 (2x Aryl-CH); 129,2 (Aryl-CH); 129,8 (2x Aryl-CH); 135,1 (Aryl-C); 136,2 (Aryl-C); 151,437 (Aryl-C); 157,3 (Aryl-C); 168,9 (CON); 172,5 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3264 (w); 3056 (w); 2920 (w); 1671 (m); 1612 (m); 1542 (m); 1488 (m); 1226 (m); 690 (m)

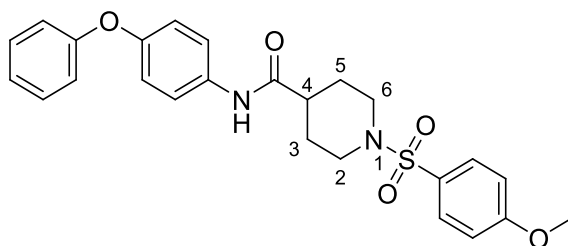
MS (ESI)

m/z (%): 401 [M+H]⁺ (100); 418 [M+NH₄]⁺ (91)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₂₅H₂₄N₂O₃: 400,1787; gefunden: 400,1803 [M]⁺

1-(4-Methoxyphenylsulfonyl)-N-(4-phenoxyphenyl)piperidin-4-carbamid (220)
SCHL-24379



$C_{25}H_{26}N_2O_5S$
 (466,55 g/mol)

Die Reaktion wurde unter Inertgas durchgeführt. Eine Lösung von **SCHL-24519** (194 mg; 0,58 mmol) und 4-Methoxybenzen-1-sulfonylchlorid (120 mg; 0,58 mmol) in THF wurde 2 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde mit dem zehnfachen Volumen H_2O versetzt und der entstandene FS abgetrennt.

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (220 mg; 0,47 mmol; 81 %)

Smp.: 229 °C

1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,59-1,69 und 1,85-1,88 (2 m; je 2H und 2H; *H*-3; *H*-5); 2,26-2,31 und 3,61 bis 3,64 (2 m; je 3H und 2H; *H*-2; *H*-4; *H*-6); 3,86 (s; 3H; CH_3); 6,93-6,98 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,07-7,18 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,32-7,37 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,56-7,71 (m; 4H; Aryl-*H*); 9,85 (s; 1H; CONH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_C (ppm): 27,5 (*C*-3; *C*-5); 41,2 (*C*-4); 45,2 (*C*-2; *C*-6); 55,6 (CH_3); 114,4 (2x Aryl-CH); 117,7 (2x Aryl-CH); 119,3 (2x Aryl-CH); 120,7 (2x Aryl-CH); 122,8; (Aryl-CH); 127,1 (2x Aryl-CH); 129,5 (2x Aryl-CH); 129,8 (Aryl-*C*); 134,9 (Aryl-*C*); 151,5 (Aryl-*C*); 157,3 (Aryl-*C*); 162,6 (Aryl-*C*); 172,2 (CONH)

IR (ATR)

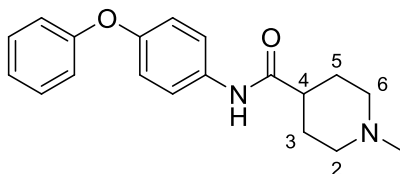
ν (cm^{-1}): 3292 (w); 2936 (w); 2841 (w); 1652 (m); 1592 (m); 1490 (m); 1232 (s); 1154 (s); 836 (s); 724 (s)

MS (ESI)

m/z (%): 208 (56); 231 (24); 484 $[M+NH_4]^+$ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für $C_{25}H_{26}N_2O_5S$: 466,1562; gefunden: 466,1590 $[M]^+$

1-Methyl-N-(4-phenoxyphenyl)piperidin-4-carbamid (222) SCHL-24518

$C_{19}H_{22}N_2O_2$
(310,39 g/mol)

Gemäß **AAV4b** und **AAV5a** aus 4-Carboxy-1-Methylpiperidiniumchlorid (208 mg; 1,16 mmol), Oxalylchlorid (0,15 ml; 1,74 mmol), 4-Phenoxyanilin (215 mg; 1,16 mmol) und Triethylamin (0,32 ml; 2,32 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (331 mg; 1,07 mmol; 92 %)

Smp.: 169 °C

1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,60-1,74 und 1,82-1,89 und 2,79-2,82 (3 m; je 4H und 2H und 2H; *H*-2; *H*-3; *H*-5; *H*-6); 2,15 (s; 3H; CH_3); 2,25 (tt; $J = 11,3$; 4,0 Hz; 1H; *H*-4); 6,93-6,97 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,07-7,10 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,33-7,37 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,60-7,63 (m; 2H; Aryl-*H*); 9,84 (br s; 1H; CONH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_C (ppm): 28,4 (*C*-3; *C*-5); 42,3 (*C*-4); 46,1 (CH_3); 54,7 (*C*-2; *C*-6); 117,7 (2x Aryl-CH); 119,4 (2x Aryl-CH); 120,6 (2x Aryl-CH); 122,8 (Aryl-CH); 129,9 (2x Aryl-CH); 135,3 (Aryl-*C*); 151,3 (Aryl-*C*); 157,4 (Aryl-*C*); 173,4 (CO)

IR (ATR)

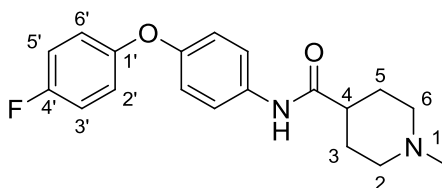
ν (cm^{-1}): 3297 (m); 2935 (w); 2786 (m); 1655 (s); 1537 (m); 1487 (s); 1225 (s); 1137 (m); 870 (m); 690 (s)

MS (ESI)

m/z (%): 311 ($M+H$)⁺ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für $C_{19}H_{22}N_2O_2$: 310,1681; gefunden: 310,1667 [M]⁺

N-(4-(4-Fluorphenoxy)phenyl)-1-methylpiperidin-4-carbamid (245) SCHL-24555

$C_{19}H_{21}FN_2O_2$
(328,38 g/mol)

Gemäß **AAV4b** und **AAV5a** aus 4-Carboxy-1-methylpiperidiniumchlorid (199 mg; 1,11 mmol), Oxalylchlorid (0,14 ml; 1,67 mmol), 4-(4-Fluorphenoxy)anilin (225 mg; 1,11 mmol) und Triethylamin (0,31 ml; 2,22 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (346 mg; 1,05 mmol; 95 %)

Smp.: 170 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,59-1,74 (m; 4H; *H*-3; *H*-5); 1,81-1,88 und 2,79-2,82 (2 m; je 2H und 2H; *H*-2; *H*-6); 2,15 (s; 1H; CH₃); 2,24 (tt; *J* = 11,4; 4,1 Hz; 1H; *H*-4); 6,93-7,01 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,16-7,21 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,60-7,62 (m; 2H; Aryl-*H*); 9,85 (CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 28,4 (*C*-3; *C*-5); 42,3 (*C*-4); 46,1 (CH₃); 54,7 (*C*-2; *C*-6); 116,3 (d; *J*_(C,F) = -24 Hz; *C*-3'; *C*-5'); 118,9 (2x Aryl-CH); 119,6 (d; *J*_(C,F) = -9 Hz; *C*-2'; *C*-6'); 120,6 (2x Aryl-CH); 135,2 (Aryl-*C*); 151,8 (Aryl-*C*); 153,3 (d; *J*_(C,F) = -2 Hz; *C*-1'); 157,8 (d; *J*_(C,F) = -239 Hz; *C*-4'); 173,3 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3292 (m); 2939 (w); 2784 (w); 1651 (m); 1535 (m); 1498 (s); 1206 (s); 1138 (m); 966 (m); 846 (s); 803 (m); 773 (m)

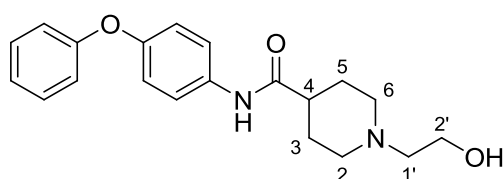
MS (ESI)

m/z (%): 329 [M+H]⁺ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₉H₂₁FN₂O₂: 328,1587; gefunden: 328,1573 [M]⁺

1-(2-Hydroxyethyl)-<i>N</i>-(4-phenoxyphenyl)piperidin-4-carbamid (223) SCHL-24521



C₂₀H₂₄N₂O₃
(340,42 g/mol)

Gemäß **AAV11a** aus **SCHL-24519** (200 mg; 0,60 mmol), 2-Bromethanol (0,05 ml; 0,66 mmol) und K₂CO₃ (166 mg; 1,20 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (132 mg; 0,39 mmol; 65 %)

Smp.: 146 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,59-1,74 (m; 4H; *H*-3; *H*-5); 1,92-1,98 und 2,90-2,93 (2 m; je 2H und 2H; *H*-2; *H*-6); 2,27 (tt; *J* = 11,4; 4,0 Hz; 1H; *H*-4); 2,37 (t; *J* = 6,3 Hz; 2H; *H*-1'); 3,49 (dd; *J* = 11,7; 6,2 Hz; 2H; *H*-2'); 4,37 (t; *J* = 5,3 Hz; 1H; OH); 6,93-6,98 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,06-7,10 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,32-7,38 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,60-7,64 (m; 2H; Aryl-*H*); 9,87 (s; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 28,5 (C-2; C-5); 42,8 (C-1); 53,2 (C-3; C-4); 58,6 (C-7); 60,5 (C-6); 117,6 (2x Aryl-CH); 119,4 (2x Aryl-CH); 120,6 (2x Aryl-CH); 122,8 (Aryl-CH); 129,9 (2x Aryl-CH); 135,3 (Aryl-C); 151,3 (Aryl-C); 157,4 (Aryl-C); 173,3 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3273 (m); 2944 (w); 2802 (w); 1650 (s); 1524 (m); 1505 (m); 1489 (s); 1232 (m); 1137 (w); 1031 (m); 691 (m)

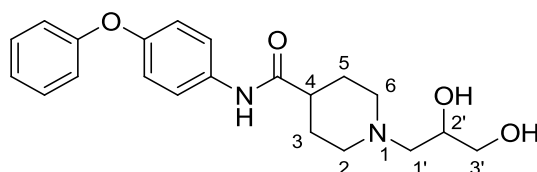
MS (ESI)

m/z (%): 341,16 [M+H]⁺ (100); 681 [2M+H]⁺ (16)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₂₀H₂₄N₂O₃: 340,1787; gefunden: 340,1809 [M]⁺

1-(2,3-Dihydroxypropyl)-N-(4-phenoxyphenyl)piperidin-4-carbamid (230) SCHL-24542



C₂₁H₂₆N₂O₄
(370,44 g/mol)

Gemäß **AAV11a** aus **SCHL-24519** (203 mg; 0,61 mmol), 3-Brompropan-1,2-diol (0,06 mg; 0,67 mmol) und K₂CO₃ (169 mg; 1,22 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (199 mg; 0,54 mmol; 89 %)

Smp.: 147 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,60-1,75 (m; 4H; H-3; H-5); 1,95-2,02 und 2,91-2,99 (2 m; je 2H und 2H; H-2; H-6); 2,22-2,38 (m; 3H; H-4; H-1'); 3,28-3,37 (m; 2H; H-3'); 3,61 (qd; J = 10,5; 5,4 Hz; 1H; H-2'); 4,33 (br d; J = 4,3 Hz; 1H; OH); 4,52 (br s; 1H; OH); 6,93-6,98 (m; 4H; Aryl-H); 7,07-7,10 (m; 1H; Aryl-H); 7,33-7,37 (m; 2H; Aryl-H); 7,61-7,63 (m; 2H; Aryl-H); 9,84 (s; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

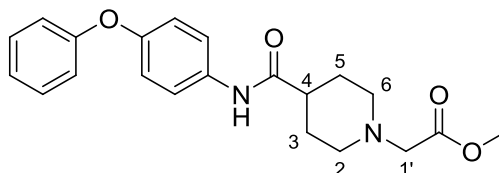
δ_C (ppm): 28,5 (C-3; C-5); 42,8 (C-4); 53,4 (Piperidin-CH₂); 53,6 (Piperidin-CH₂); 61,9 (C-1'); 64,9 (C-3'); 68,5 (C-2'); 117,6 (2x Aryl-CH); 119,4 (2x Aryl-CH); 120,6 (2x Aryl-CH); 122,8 (Aryl-CH); 129,9 (2x Aryl-CH); 135,3 (Aryl-C); 151,3 (Aryl-C); 157,4 (Aryl-C); 173,3 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3268 (m); 2930 (w); 1650 (s); 1523 (m); 1505 (m); 1489 (s); 1231 (s); 1099 (w); 842 (w); 691 (m)

MS (ESI)

m/z (%): 371 [M+H]⁺ (100)

MS (EI-HRMS)m/z berechnet für C₂₁H₂₆N₂O₄: 370,1896;gefunden: 370,1856 [M]⁺**Methyl(4-(4-phenoxyphenylcarbamoyl)piperidin-1-yl)acetat (224) SCHL-24526**C₂₁H₂₄N₂O₄
(368,43 g/mol)

Gemäß **AAV11b** aus **SCHL-24519** (202 mg; 0,61 mmol), 2-Bromessigsäuremethylester (0,06 ml; 0,61 mmol) und K₂CO₃ (168 mg; 1,22 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (65 mg; 0,18 mmol; 30 %)

Smp.: 134 °C**¹H-NMR** (DMSO-d₆; 400 MHz)

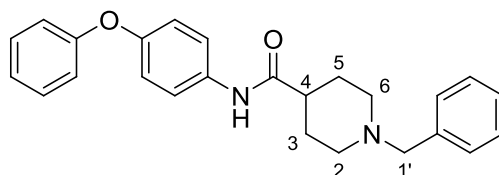
δ_H (ppm): 1,61-1,75 (m; 4H; *H*-3; *H*-5); 2,18-2,32 und 2,86-2,89 (2 m; je 3H und 2H; *H*-2; *H*-4; *H*-6); 3,23 (s; 2H; *H*-1'); 3,62 (s; 3H; CH₃); 6,93-7,10 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,33- 7,63 (m; 4H; Aryl-*H*); 9,84 (s; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 28,4 (*C*-3, *C*-5); 42,3 (*C*-4); 51,0 (CH₃); 51,8 (*C*-2; *C*-6); 58,6 (*C*-1'); 117,6 (2x Aryl-CH); 119,3 (2x Aryl-CH); 120,6 (2x Aryl-CH); 122,8 (Aryl-CH); 129,8 (2x Aryl-CH); 135,2 (Aryl-C); 151,3 (Aryl-C); 157,4 (Aryl-C); 170,5 (COO); 173,2 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3293 (m); 2950 (w); 1746 (m); 1650 (m); 1519 (m); 1504 (m); 1487 (s); 1226 (s); 1198 (m); 1161 (m); 1146 (m); 773 (m); 693 (m)

MS (ESI)m/z (%): 269 [M+H]⁺ (100)**MS** (EI-HRMS)m/z berechnet für C₂₁H₂₄N₂O₄: 368,1736;gefunden: 368,1729 [M]⁺**1-Benzyl-N-(4-phenoxyphenyl)piperidin-4-carbamid (225) SCHL-24520**C₂₅H₂₆N₂O₂
(386,49 g/mol)

Gemäß **AAV11b** aus **SCHL-24519** (201 mg; 0,60 mmol), Benzylbromid (0,07 ml; 0,06 mmol) und K₂CO₃ (166 mg; 1,20 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (212 mg; 0,55 mmol; 92 %)

Smp.: 178 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,62-1,76 und 1,92-1,99 und 2,85-2,88 (3 m; je 4H und 2H und 2H; *H*-2; *H*-3; *H*-5; *H*-6); 2,31 (tt; *J* = 11,4; 4,1 Hz; 1H; *H*-4); 3,46 (s; 2H; *H*-1'); 6,93-6,97 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,07-7,10 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,22-7,38 (m; 7H; Aryl-*H*); 7,61-7,63 (m; 2H; Aryl-*H*); 9,84 (br s; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 28,4 (*C*-3; *C*-5); 42,8 (*C*-4); 52,6 (*C*-2; *C*-6); 62,3 (*C*-1'); 117,6 (2x Aryl-CH); 119,4 (2x Aryl-CH); 120,6 (2x Aryl-CH); 122,8 (Aryl-CH); 126,7 (Aryl-CH); 128,0 (2x Aryl-CH); 128,6 (2x Aryl-CH); 129,8 (2x Aryl-CH); 135,3 (Aryl-C); 138,4 (Aryl-C); 151,3 (Aryl-C); 157,4 (Aryl-C); 173,3 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3310 (m); 2938 (w); 2746 (w); 1652 (m); 1534 (m); 1506 (m); 1485 (m); 1223 (s); 1188 (m); 1113 (m); 966 (m); 741 (m); 693 (s)

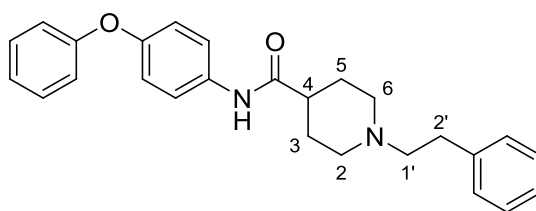
MS (ESI)

m/z (%): 387 [M+H]⁺ (100)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für C₂₅H₂₆N₂O₂: 386,1994; gefunden: 386,2004 [M]⁺

1-Phenethyl-N-(4-phenoxyphenyl)piperidin-4-carbamid (226) SCHL-24524



C₂₆H₂₈N₂O₂
(400,51 g/mol)

Gemäß **AAV11a** aus **SCHL-24519** (197 mg; 0,59 mmol), (2-Bromomethyl)benzen (0,09 ml; 0,65 mmol) und K₂CO₃ (163 mg; 1,18 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (213 mg; 0,53 mmol; 90 %)

Smp.: 178 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,60-1,77 (m; 4H; *H*-3; *H*-5); 1,94-2,00 und 2,97-3,00 (2 m; je 2H und 2H; *H*-2; *H*-6); 2,30 (tt; *J* = 11,5; 3,9 Hz; 1H; *H*-4); 2,48-2,75 (m; 4H; *C*-1'; *C*-2'); 6,93-7,10 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,15-7,37 (m; 7H; Aryl-*H*); 7,60-7,64 (m; 2H; Aryl-*H*); 9,84 (s; 1H; CONH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_{C} (ppm): 28,4 (2x CH_2); 32,8 (CH_2); 42,9 (C-4); 52,6 (2x CH_2); 59,9 (CH_2); 117,6 (2x Aryl-CH); 119,3 (2x Aryl-CH); 120,6 (2x Aryl-CH); 122,7 (Aryl-CH); 125,6 (Aryl-CH); 128,1 (2x Aryl-CH); 128,5 (2x Aryl-CH); 129,8 (2x Aryl-CH); 135,3 (Aryl-C); 140,5 (Aryl-C); 151,3 (Aryl-C); 157,4 (Aryl-C); 173,3 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm^{-1}): 3274 (m); 2938 (w); 2766 (w); 1655 (m); 1590 (m); 1487 (m); 1220 (m); 1105 (m); 746 (m); 692 (s)

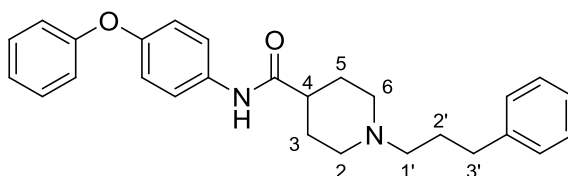
MS (ESI)

m/z (%): 401 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_2$: 400,2151; gefunden: 400,2116 $[\text{M}]^+$

***N*-(4-Phenoxyphenyl)-1-(3-phenylpropyl)piperidin-4-carbamid (227) SCHL-24522**



$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2$
(414,54 g/mol)

Gemäß **AAV11a** aus **SCHL-24519** (199 mg; 0,60 mmol), (3-Brompropyl)benzen (0,10 ml; 0,66 mmol) und K_2CO_3 (166 mg; 1,20 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus
Aceton, H_2O (10:2)

Weißer FS (211 mg; 0,51 mmol; 85 %)

Smp.: 143 °C

^1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_{H} (ppm): 1,64-1,88 und 2,88-2,91 (2 m; je 8H und 2H; *H*-2; *H*-3; *H*-5; *H*-6; *H*-2'); 2,24-2,32 (m; 3H; *H*-4; *H*-1'); 2,58 (t; $J = 7,6$ Hz; 2H; *H*-3'); 6,93-6,99 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,06-7,10 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,14-7,37 (m; 7H; Aryl-*H*); 7,61-7,64 (m; 2H; Aryl-*H*); 9,88 (s; 1H; CONH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

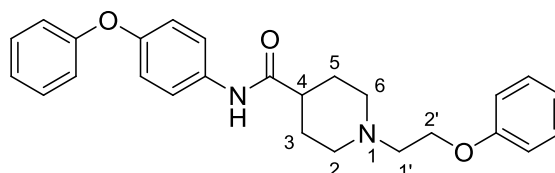
δ_{C} (ppm): 28,3 (C-2'); 28,5 (C-3; C-5); 32,9 (C-3'); 43,0 (C-4); 52,8 (C-2; C-6); 57,4 (C-1'); 117,6 (2x Aryl-CH); 119,4 (2x Aryl-CH); 120,6 (2x Aryl-CH); 122,8 (Aryl-CH); 125,5 (Aryl-CH); 128,1 (2x Aryl-CH); 128,2 (2x Aryl-CH); 129,9 (2x Aryl-CH); 135,3 (Aryl-C); 142,0 (Aryl-C); 151,3 (Aryl-C); 157,4 (Aryl-C); 173,3 (CO)

IR (ATR)

ν (cm^{-1}): 3278 (w); 2944 (w); 2765 (w); 1648 (m); 1527 (m); 1505 (m); 1489 (s); 1233 (m); 750,6 (m); 689 (s)

MS (ESI)

m/z (%): 415 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100)

MS (EI-HRMS)m/z berechnet für C₂₇H₃₀N₂O₂: 414,2307;gefunden: 414,2318 [M]⁺**1-(2-Phenoxyethyl)-N-(4-phenoxyphenyl)piperidin-4-carbamid (229) SCHL-24538**C₂₆H₂₈N₂O₃
(416,51 g/mol)

Gemäß **AAV11a** aus **SCHL-24519** (224 mg; 0,67 mmol), (2-Bromoethoxy)benzen (149 mg; 0,74 mmol) und K₂CO₃ (186 mg; 1,35 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (230 mg; 0,55 mmol; 82 %)

Smp.: 148 °C**¹H-NMR** (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,59-1,77 (m; 4H; *H*-3; *H*-5); 2,04-2,09 und 2,99-3,01 (2 m; je 2H und 2H; *H*-2; *H*-6); 2,30 (tt; *J* = 11,5; 3,9 Hz; 1H; *H*-4); 2,70 (t; *J* = 5,9 Hz; 2H; *H*-1'); 4,07 (t; *J* = 5,9 Hz; 2H; *H*-2'); 6,91-6,79 (m; 7H; Aryl-*H*); 7,07-7,10 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,26-7,37 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,61-7,63 (m; 2H; Aryl-*H*); 9,84 (s; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

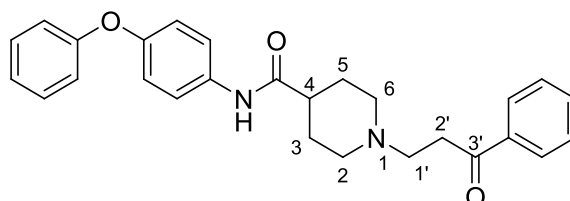
δ_C (ppm): 28,4 (*C*-3; *C*-5); 42,7 (*C*-4); 53,0 (*C*-2; *C*-6); 56,8 (*C*-1'); 65,4 (*C*-2'); 114,4 (2x Aryl-CH); 117,6 (2x Aryl-CH); 119,3 (2x Aryl-CH); 120,3 (Aryl-CH); 120,6 (2x Aryl-CH); 122,7 (Aryl-CH); 129,3 (2x Aryl-CH); 129,8 (2x Aryl-CH); 135,2 (Aryl-C); 151,3 (Aryl-C); 157,3 (Aryl-C); 158,3 (Aryl-C); 173,2 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3296 (m); 2946 (m); 2790 (w); 1651 (m); 1590 (m); 1533 (m); 1487 (m); 1306 (w); 1222 (m); 747 (m); 690 (s)

MS (ESI)m/z (%): 417 [M+H]⁺ (100)**MS** (EI-HRMS)m/z berechnet für C₂₆H₂₈N₂O₃: 416,2100;gefunden: 416,2111 [M]⁺

1-(3-Oxo-3-phenylpropyl)-N-(4-phenoxyphenyl)piperidin-4-carbamid (228)
SCHL-24540



$C_{27}H_{28}N_2O_3$
 (428,52 g/mol)

Gemäß **AAV11a** aus **SCHL-24519** (312 mg; 0,94 mmol), 3-Brom-1-phenylpropan-1-on (220 mg; 1,03 mmol) und K_2CO_3 (260 mg; 1,88 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Weißer FS (265 mg; 0,62 mmol; 66 %)
 Toluol, Pentan (5:1)

Smp.: 129 °C

1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,58-1,76 (m; 4H; *H*-3; *H*-5) und 1,94-2,00 und 2,94-2,96 (2 m; je 2H und 2H; *H*-2; *H*-6); 2,26-2,32 (m; 1H; *H*-4); 2,68 (t; *J* = 6,9 Hz; 2H; *H*-1'); 3,19 (t; *J* = 6,9 Hz; 2H; *H*-2'); 6,93-6,97 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,06-7,10 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,33-7,37 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,50-7,64 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,97-7,99 (m; 2H; Aryl-*H*); 9,85 (s; 1H; CONH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_C (ppm): 28,4 (*C*-3; *C*-5); 35,9 (*C*-2'); 42,8 (*C*-4); 52,7 (*C*-2; *C*-6); 53,1 (*C*-1'); 117,6 (2x Aryl-CH); 119,3 (2x Aryl-CH); 120,6 (2x Aryl-CH); 122,7 (Aryl-CH); 127,8 (2x Aryl-CH); 128,6 (2x Aryl-CH); 129,8 (2x Aryl-CH); 132,9 (Aryl-CH); 135,3 (Aryl-C); 136,7 (Aryl-C); 151,3 (Aryl-C); 157,4 (Aryl-C); 173,2 (CONH); 199,3 (*C*-3')

IR (ATR)

ν (cm $^{-1}$): 3571 (w); 1673 (s); 1548 (m); 1505 (m); 1376 (m); 1222 (m); 1116 (m); 812 (m); 688 (m); 561 (m); 516 (m)

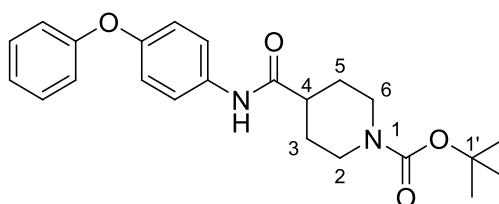
MS (ESI)

m/z (%): 429 [*M*+*H*] $^+$ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für $C_{27}H_{28}N_2O_3$: 428,2100; gefunden: 428,2088 [*M*] $^+$

***tert*-Butyl-4-(4-phenoxyphenylcarbamoyl)piperidin-1-carboxylat (216) SCHL-24377**



$C_{23}H_{28}N_2O_4$
 (396,48 g/mol)

Gemäß **AAV6** aus 4-Phenoxyanilin (2,61 g; 14,1 mmol), 1-(*tert*-Butoxycarbonyl)piperidin-4-carbonsäure (3,23 g; 14,1 mmol), EDC (3,24 g; 16,9 mmol) und HOBt (2,29 g; 16,9 mmol)

Reinigung: Gemäß AAV

Weißer FS (5,03 g; 12,7 mmol; 90 %)

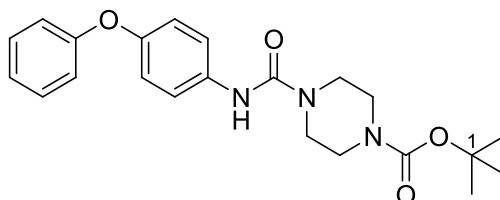
¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,40 (s; 9H; 3x CH₃); 1,42-1,56 und 1,74-1,78 (2 m; je 2H und 2H; *H*-3; *H*-5); 2,45-2,53 (m; 1H; *H*-4); 2,66-2,87 und 3,98-4,01 (2 m; je 2H und 2H; *H*-2; *H*-6); 6,93-7,11 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,34-7,38 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,61-7,63 (m; 2H; Aryl-*H*); 9,96 (s; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 28,0 (3x CH₃); 28,1 (C-3; C-5); 42,4 (C-4); 42,7 (br; C-2; C-6); 78,5 (C-1'); 117,6 (2x Aryl-CH); 119,3 (2x Aryl-CH); 120,7 (2x Aryl-CH); 122,8 (Aryl-CH); 129,8 (2x Aryl-CH); 135,1 (Aryl-C); 151,4 (Aryl-C); 153,7 (Aryl-C); 157,3 (CON); 172,7 (CONH)

***tert*-Butyl-4-(4-phenoxyphenylcarbamoyl)piperazin-1-carboxylat (272) SCHL-24531**



C₂₂H₂₇N₃O₄
(397,47 g/mol)

Die Reaktion wurde unter Inertgas durchgeführt. Eine auf 0 °C gekühlte Lösung von 4-Phenoxyanilin (404 mg; 2,18 mmol) und CDI (354 mg; 2,18 mmol) in DCM wurde 10 min bei RT gerührt. Anschließend wurde mit *tert*-Butylpiperazin-1-carboxylat versetzt (406 mg; 2,18 mmol) und 48 h bei RT gerührt. Der entstandene FS wurde abgetrennt.

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (557 mg; 1,40 mmol; 64 %)

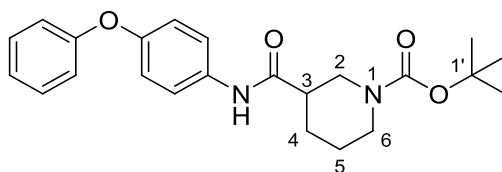
Aus *tert*-Butylpiperazin-1-carboxylat und 1-Isocyanato-4-phenoxybenzen in DCM von MATSUNO et al. hergestellt (80 %).^[489]

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,42 (s; 9H; 3x CH₃); 3,34-3,37 (m; 4H; 2x CH₂); 3,41-3,44 (m; 4H; 2x CH₂); 6,92-6,95 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,06-7,09 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,33-7,37 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,45-7,47 (m; 2H; Aryl-*H*); 8,57 (s; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 28,0 (3x CH₃); 42,6 (CH₂); 42,9 (CH₂); 43,2 (CH₂); 43,5 (CH₂); 79,0 (C-1); 117,6 (2x Aryl-CH); 119,3 (2x Aryl-CH); 121,3 (2x Aryl-CH); 122,7 (Aryl-CH); 129,8 (2x Aryl-CH); 136,3 (Aryl-C); 150,6 (Aryl-C); 154,0 (NCOO); 155,0 (NHCON); 157,6 (Aryl-C)

tert-Butyl-(4-phenoxyphenylcarbamoyl)piperidin-1-carboxylat (273) SCHL-24536

$C_{23}H_{28}N_2O_4$
(396,48 g/mol)

Gemäß **AAV6** aus 4-Phenoxyanilin (170 mg; 0,92 mmol), 1-(*tert*-Butoxycarbonyl)piperidin-3-carbonsäure (210 mg; 0,92 mmol), EDC (211 mg; 1,10 mmol) und HOBt (149 mg; 1,10 mmol)

Reinigung: Gemäß AAV

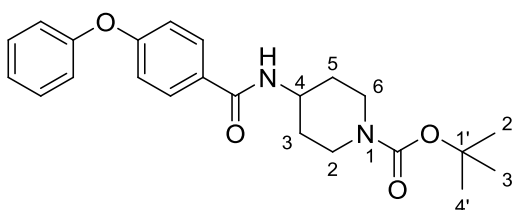
Weißer FS (313 mg; 0,79 mmol; 86 %)

1H -NMR ($CDCl_3$; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,47 (s; 9H; 3x CH_3); 1,51-2,17 (m; 4H; *H*-4; *H*-5); 2,45-2,53 (m; 1H; *H*-3); 3,11-3,89 (m; 4H; *H*-2; *H*-6); 6,96-6,98 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,05-7,09 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,28-7,33 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,53-7,55 (m; 2H; Aryl-*H*); 8,19 (br s; 1H; CONH)

^{13}C -NMR ($CDCl_3$; 100 MHz)

δ_C (ppm): 24,0 (*C*-5); 27,6 (*C*-4); 28,4 (3x CH_3); 43,6 (*C*-3); 44,6 (*C*-2); 45,6 (*C*-6); 80,3 (*C*-1'); 118,3 (2x Aryl-CH); 119,6 (2x Aryl-CH); 121,4 (2x Aryl-CH); 122,9 (Aryl-CH); 129,7 (2x Aryl-C); 133,7 (Aryl-C); 153,2 (COO); 155,1 (Aryl-C); 157,6 (Aryl-C); 171,2 (CONH)

tert-Butyl-(4-phenoxybenzoylamino)piperidin-1-carboxylat (274) SCHL-24539

$C_{23}H_{28}N_2O_4$
(396,48 g/mol)

Gemäß **AAV6** aus 4-Phenoxybenzoesäure (200 mg; 0,93 mmol), *tert*-Butyl(4-aminopiperidin-1-carboxylat) (187 mg; 0,93 mmol), EDC (214 mg; 1,12 mmol) und HOBt (151 mg; 1,12 mmol)

Reinigung: Gemäß AAV

Weißer FS (362 mg; 0,91 mmol; 98 %)

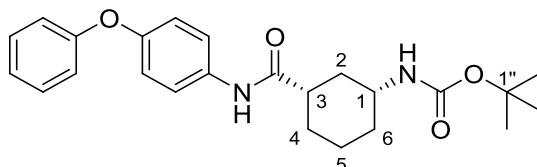
1H -NMR ($DMSO-d_6$; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,37-1,45 und 1,76-1,79 (2 m; je 11H und 2H; *H*-3; *H*-5; *H*-2'; *H*-3'; *H*-4'); 2,7-2,91 und 3,92-4,00 (2 m; je 2H und 3H; *H*-2; *H*-4; *H*-6); 7,01-7,07 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,18-7,21 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,41-7,45 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,86-7,88 (m; 2H; Aryl-*H*); 8,19 (d; $J = 7,8$ Hz; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 28,0 (C-2'; C-3'; C-4'); 31,2 (br; C-3; C-5); 42,6 (br; C-2; C-6); 46,4 (C-4); 78,5 (C-1'); 117,3 (2x Aryl-CH); 119,2 (2x Aryl-CH); 124,0 (Aryl-CH); 129,3 (2x Aryl-CH; Aryl-C); 130,1 (2x Aryl-CH); 153,8 (Aryl-C); 155,7 (NCOO); 159,1 (Aryl-C); 164,7 (CONH)

***tert*-Butyl-(1*R*,3*S*)-3-(4-phenoxyphenylcarbamoyl)cyclohexylcarbammat (275)**
SCHL-24544



C₂₄H₃₀N₂O₄
(410,51 g/mol)

Gemäß **AAV6** aus 4-Phenoxyanilin (188 mg; 1,01 mmol), (1*S*,3*R*)-3-(*tert*-butoxycarbonylamino)cyclohexancarbonsäure (247 mg; 1,01 mmol), EDC (233 mg; 1,22 mmol) und HOBt (164 mg; 1,22 mmol)

Reinigung: Gemäß AAV

Weißer FS (383 mg; 0,93 mmol; 92 %)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

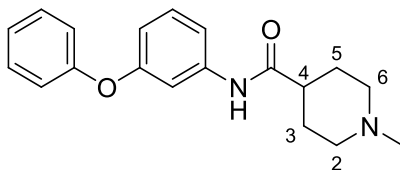
δ_H (ppm): 1,04-1,35 und 1,74-1,77 und 1,88-1,91 (3 m; je 4H und 3H und 1H; *H*-2; *H*-4; *H*-5; *H*-6); 1,38 (s; 9H; 3x CH₃); 2,35-2,41 (m; 1H; *H*-3); 3,26-3,35 (m; 1H; *H*-1); 6,78 (d; *J* = 8,1 Hz; 1H; NHCOO); 6,93-6,98 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,07-7,10 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,33-7,37 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,58-7,62 (m; 2H; Aryl-*H*); 9,85 (s; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 23,9 (CH₂); 28,0 (CH₂); 28,1 (3x CH₃); 31,9 (CH₂); 35,5 (CH₂); 43,9 (C-3); 48,5 (C-1); 77,3 (C-1'); 117,6 (2x Aryl-CH); 119,3 (2x Aryl-CH); 120,6 (2x Aryl-CH); 122,7 (Aryl-CH); 129,8 (2x Aryl-CH); 135,3 (Aryl-C); 151,3 (Aryl-C); 154,7 (NHCOO); 157,4 (Aryl-C); 173,0 (CONH)

D.4.7. Weitere *N*-Phenylcarbonsäureamidderivate

1-Methyl-*N*-(3-phenoxyphenyl)piperidin-4-carbamid (244) SCHL-24551



C₁₉H₂₂N₂O₂
(310,39 g/mol)

Gemäß **AAV4b** und **AAV5a** aus 4-Carboxy-1-methylpiperidiniumchlorid (198 mg; 1,10 mmol), Oxalylchlorid (0,14 ml; 1,65 mmol), 3-Phenoxyanilin (204 mg; 1,10 mmol) und Triethylamin (0,31 ml; 2,20 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (311 mg; 1,00 mmol; 91 %)

Smp.: 153 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,55-1,71 (m; 4H; *H*-3; *H*-5); 1,79-1,85 und 2,77-2,80 (2 m; je 2H und 2H; *H*-2; *H*-6); 2,14 (s; 3H; CH₃); 2,22 (tt; *J* = 11,6; 4,0 Hz; 1H; *H*-4); 6,66-6,69 (m; 1H; Aryl-*H*); 6,99-7,03 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,12-7,17 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,25-7,42 (m; 5H; Aryl-*H*); 9,91 (s; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 28,3 (*C*-3; *C*-5); 42,4 (*C*-4); 46,1 (CH₃); 54,7 (*C*-2; *C*-6); 108,8 (Aryl-CH); 112,9 (Aryl-CH); 113,8 (Aryl-CH); 118,8 (2x Aryl-CH); 123,4 (Aryl-CH); 129,9 (3x Aryl-CH); 140,8 (Aryl-*C*); 156,4 (Aryl-*C*); 156,9 (Aryl-*C*); 173,7 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3263 (w); 2939 (w); 2778 (w); 1656 (m); 1540 (m); 1485 (m); 1434 (m); 1215 (s); 1133 (m); 964 (m); 769 (m); 688 (m)

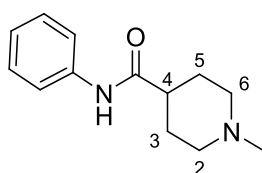
MS (ESI)

m/z (%): 311 [M+H]⁺ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₉H₂₂N₂O₂: 310,1681; gefunden: 310,1662 [M]⁺

1-Methyl-*N*-phenylpiperidin-4-carbamid (241) SCHL-24552



C₁₃H₁₈N₂O
(218,29 g/mol)

Gemäß **AAV4b** und **AAV5a** aus 4-Carboxy-1-methylpiperidiniumchlorid (301 mg; 1,67 mmol), Oxalylchlorid (0,22 ml; 2,51 mmol), Anilin Hydrochlorid (217 mg; 1,67 mmol) und Triethylamin (0,70 ml; 5,01 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (347 mg; 1,59 mmol; 95 %)

Smp.: 156 °C (Lit.: 140-142 °C)^[490]

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,60-1,75 (m; 4H; *H*-3; *H*-5); 1,82 bis 1,89 und 2,80-2,82 (2 m; je 2H und 2H; *H*-2; *H*-6); 2,15 (s; 3H; CH₃); 2,26 (tt; *J* = 11,4; 4,1 Hz; 1H; *H*-4); 6,99-7,03 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,25-7,29 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,59-7,61 (m; 2H; Aryl-*H*); 9,82 (s; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 28,4 (C-3; C-5); 42,3 (C-4); 46,1 (CH₃); 54,7 (C-2; C-6); 119,0 (2x Aryl-CH); 122,8 (Aryl-CH); 128,5 (2x Aryl-CH); 139,3 (Aryl-C); 173,5 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3307 (m); 2923 (m); 2780 (m); 1657 (m); 1598 (m); 1536 (s); 1496 (m); 1441 (s); 1375 (m); 1136 (m); 964 (m); 757 (s); 691 (s)

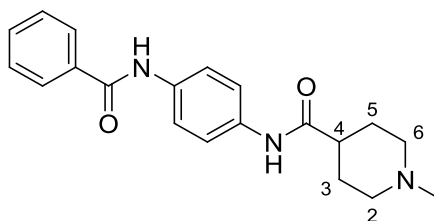
MS (ESI)

m/z (%): 219 [M+H]⁺ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₃H₁₈N₂O: 218,1419; gefunden: 218,1424 [M]⁺

<i>N</i>-(4-Benzoylamino-phenyl)-1-methylpiperidin-4-carbamid (243) SCHL-24549



C₂₀H₂₃N₃O₂
(337,42 g/mol)

Gemäß **AAV4b** und **AAV5a** aus 4-Carboxy-1-methylpiperidiniumchlorid (187 mg; 1,04 mmol), Oxalylchlorid (0,13 ml; 1,57 mmol), *N*-(4-Aminophenyl)benzamid (222 mg; 1,04 mmol) und Triethylamin (0,29 ml; 2,08 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (330 mg; 0,98 mmol; 94 %)

Smp.: 288 (Zers.)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,61-1,75 (m; 4H; *H*-3; *H*-5); 1,83-1,88 und 2,80-2,83 (2 m; je 2H und 2H; *H*-2; *H*-6); 2,16 (s; 3H; CH₃); 2,26 (tt; *J* = 11,4; 3,9 Hz; 1H; *H*-4); 7,50-7,58 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,67-7,68 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,94-7,95 (m; 2H; Aryl-*H*); 9,80 (s; 1H; CONH); 10,16 (s; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 28,4 (C-3; C-5); 42,3 (C-4); 46,1 (CH₃); 54,7 (C-2; C-6); 119,2 (2x Aryl-CH); 120,6 (2x Aryl-CH); 127,5 (2x Aryl-CH); 128,2 (2x Aryl-CH); 131,3 (Aryl-CH); 134,2 (Aryl-C); 134,9 (Aryl-C); 135,2 (Aryl-C); 165,1 (CONH); 173,3 (CONH)

IR (ATR)

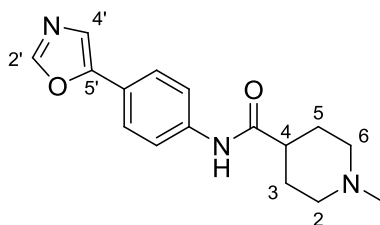
ν (cm⁻¹): 3308 (m); 2936 (w); 2783 (w); 1659 (m); 1643 (m); 1539 (s); 1519 (m); 1406 (m); 1323 (m); 1304 (m); 1135 (m); 966 (m); 828 (m); 675 (m)

MS (ESI)

m/z (%): 338 [M+H]⁺ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₂₀H₂₃N₃O₂: 337,1790; gefunden: 337,1789 [M]⁺

1-Methyl-N-(4-(oxazol-5-yl)phenyl)piperidin-4-carbamid (242) SCHL-24554


C₁₆H₁₉N₃O₂
(285,34 g/mol)

Gemäß **AAV4b** und **AAV5a** aus 4-Carboxy-1-methylpiperidiniumchlorid (198 mg; 1,10 mmol), Oxalylchlorid (0,14 ml; 1,65 mmol), 4-(Oxazol-5-yl)anilin (177 mg; 1,10 mmol) und Triethylamin (0,31 ml; 2,20 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (227 mg; 0,80 mmol; 72 %)

Smp.: 211 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,60-1,76 (m; 4H; *H*-3; *H*-5); 1,82-1,89 und 2,80-2,83 (2 m; je 2H und 2H; *H*-2; *H*-6); 2,15 (s; 3H; CH₃); 2,28 (tt; *J* = 11,4; 3,9 Hz; 1H; *H*-4); 7,56 (s; 1H; *H*-4'); 7,63-7,73 (m; 4H; Aryl-*H*); 8,38 (s; 1H; *H*-2'); 10,02 (s; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 28,4 (*C*-3; *C*-5); 42,4 (*C*-4); 46,1 (CH₃); 54,7 (*C*-2; *C*-6); 119,3 (2x Aryl-CH); 120,8 (*C*-4'); 122,0 (Aryl-*C*); 124,6 (2x Aryl-CH); 139,6 (Aryl-*C*); 150,4 (*C*-5'); 151,3 (*C*-2'); 173,8 (CONH)

IR (ATR)

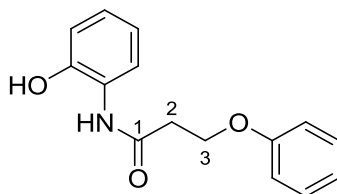
ν (cm⁻¹): 3303 (m); 3105 (w); 2934 (m); 2779 (w); 1658 (m); 1518 (s); 1410 (m); 1138 (m); 1100 (m); 825 (m); 642 (s); 521 (m)

MS (ESI)

m/z (%): 286 [M+H]⁺ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₆H₁₉N₃O₂: 285,1477; gefunden: 285,1464 [M]⁺

N-(2-Hydroxyphenyl)-3-phenoxypropanamid (104) SCHL-24407

$C_{15}H_{15}NO_3$
(257,28 g/mol)

Gemäß **AAV4a** und **AAV5c** aus 3-Phenoxypropansäure (204 mg; 1,23 mmol), Oxalylchlorid (0,16 ml; 1,85 mmol), **SCHL-24425** (134 mg; 1,23 mmol) und Triethylamin (0,34 ml; 2,46 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 95:5)

Weißer FS (205 mg; 0,64 mmol; 52 %)

Smp.: 125 °C

1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,89 (t; J = 6,0 Hz; 2H; H -2); 4,26 (t; J = 6,0 Hz; 2H; H -3); 6,75-6,79 (m; 1H; Aryl- H); 6,87-6,97 (m; 5H; Aryl- H); 7,27-7,31 (m; 2H; Aryl- H); 7,79 (m; 1H; Aryl- H); 9,36 (s; 1H; CONH); 9,76 (s; 1H; OH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_C (ppm): 35,9 (C-2); 63,7 (C-3); 114,4 (2x Aryl-CH); 115,6 (Aryl-CH); 118,8 (Aryl-CH); 120,52 (Aryl-CH); 122,0 (Aryl-CH); 124,4 (Aryl-CH); 126,2 (Aryl-C); 129,4 (2x Aryl-CH); 147,5 (Aryl-C); 158,3 (Aryl-C); 169,0 (C-1)

IR (ATR)

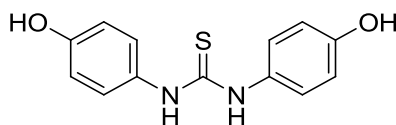
ν (cm $^{-1}$): 3385 (w); 3095 (w); 3034 (w); 2885 (w); 2750 (w); 1651 (m); 1596 (m); 1541 (s); 1452 (s); 1234 (s); 745 (s); 685 (m)

MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 109 (100); 257 [M] $^+$ (33)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für $C_{15}H_{15}NO_3$: 257,1052; gefunden: 257,1067 [M] $^+$

D.4.8. Weitere Verbindungen**1,3-Bis(4-hydroxyphenyl)-thioharnstoff (146) SCHL-24021**

$C_{13}H_{12}N_2O_2S$
(260,31 g/mol)

Nach DYSON^[302] wurden 4-Aminophenol (1,00 g; 9,16 mmol) in H₂O suspendiert und zum Sieden erhitzt. Es wurde mit Thiophosgen (0,35 ml; 4,58 mmol) und K₂CO₃ (1,27 mg; 9,16 mmol) versetzt und zwei Stunden zum Sieden erhitzt. Der beim Erkalten entstandene FS wurde abgetrennt.

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (802 mg; 3,42 mmol; 67 %)

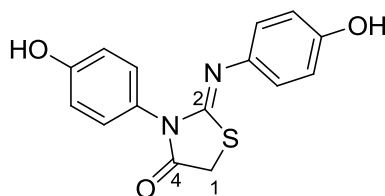
¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 6,53-6,58 (m; 4H; Aryl-*H*); 6,75-6,80 (m; 4H; Aryl-*H*); 9,24 (br s; 2H; 2x OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): (4x Aryl-CH); (4x Aryl-CH); 143,8 (2x Aryl-C); 156,9 (2x Aryl-C); 180,0 (CS)

(*E/Z*)-3-(4-Hydroxyphenyl)-2-(4-hydroxyphenylimino)-thiazolidin-4-on (148)
SCHL-24100



C₁₅H₁₂N₂O₃S
 (300,33 g/mol)

SCHL-24021 (398 mg; 1,33 mmol) wurde mit Chloressigsäure (125 mg; 1,33 mmol) verrieben und 30 min zur Schmelze erhitzt. Anschließend wurde mit 40 ml H₂O versetzt und durchmischt, bis sich ein weißer FS bildete. Dieser wurde abgetrennt.

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (319 mg; 1,06 mmol; 80 %)

Smp.: 231 °C (Zers.) (Lit.: 236 °C)^[491]

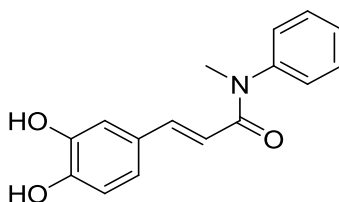
¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 4,09 (s; 2H; *H*-1); 6,68-6,72 (m; 4H; Aryl-*H*); 6,84-6,86 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,12-7,15 (m; 2H; Aryl-*H*); 9,21 (s; 1H; OH); 9,70 (s; 1H; OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 32,4 (CH₂); 115,4 (2x Aryl-CH); 115,6 (2x Aryl-CH); 121,6 (2x Aryl-CH); 126,4 (Aryl-C); 129,4 (2x Aryl-CH); 139,7 (Aryl-C); 154,0 (Aryl-C); 155,3 (C-2); 157,3 (Aryl-C); 171,8 (CON)

(*Z*)-3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-*N*-methyl-*N*-phenylacrylamid (176) SCHL-24248



C₁₆H₁₅NO₃
 (269,30 g/mol)

Gemäß **AAV4a** und **AAV5c** aus 3-(3,4-Dihydroxyphenyl)acrylsäure (441 mg; 2,45 mmol), Oxalylchlorid (0,32 ml; 3,68 mmol), (*N*-Methylanilin (0,27 ml; 3,45 mmol) und Triethylamin (0,34 ml; 2,45 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (290 mg; 1,08 mmol; 44 %)

Smp.: 206 °C (Lit.: 190-191 °C)^[313]

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 3,28 (s; 3H; CH₃); 6,09 (d; *J* = 15,4 Hz; 1H; Acryl-*H*); 6,66-6,70 (m; 3H; Aryl-*H* und Acryl-*H*); 7,32-7,41 (m; 4H; Aryl-*H*); 7,47-7,51 (m; 2H; Aryl-*H*); 9,24 (br s; 2H; 2x Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 36,9 (CH₃); 113,3 (Aryl-CH); 115,0 (Aryl-CH); 115,6 (Acryl-CH); 120,9 (Aryl-CH); 126,1 (2x Aryl-CH); 127,2 (Aryl-C und Aryl-CH); 129,5 (2x Aryl-CH); 141,2 (Acryl-CH); 143,5 (Aryl-C); 145,4 (Aryl-C); 147,6 (Aryl-C); 165,0 (CON)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3264 (w); 1639 (m); 1557 (m); 1507 (s); 1391 (m); 1282 (s); 1118 (m); 975 (m); 698 (s); 668 (m)

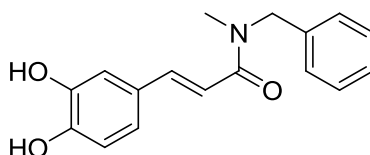
MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 106 (22); 107 (85); 108 (19); 135 (17); 147 (44); 163 (100); 164 (16); 269 [M]⁺ (45)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₆H₁₅NO₃: 269,1052; gefunden: 269,1066 [M]⁺

(<i>Z</i>)-<i>N</i>-Benzyl-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-<i>N</i>-methylacrylamid (178) SCHL-24249



C₁₇H₁₇NO₃
(283,32 g/mol)

Gemäß **AAV4a** und **AAV5c** aus 3-(3,4-Dihydroxyphenyl)acrylsäure (495 mg; 2,75 mmol), Oxalylchlorid (0,35 ml; 4,13 mmol), *N*-Methylanilin (0,35 ml; 2,75 mmol) und Triethylamin (0,38 ml; 2,75 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (259 mg; 0,96 mmol; 35 %)

Smp.: 205 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz; 100 °C)

δ_H (ppm): 3,01 (s; 3H; CH₃); 4,67 (s; 2H; CH₂); 6,76 (d; *J* = 8,1 Hz; 1H; Acryl-*H*); 6,84 (d; *J* = 15,3 Hz; 1H; Acryl-*H*); 6,92-6,94 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,03-7,04 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,25-7,28 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,34-7,4 (m; 3H; Aryl-*H*)

Die Signale für die O-*H* Atome konnten nicht detektiert werden.

Die gemessenen Werte entsprechen den Literaturdaten.^[492]

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz; 100 °C)

δ_C (ppm): 33,6 (CH₃); 51,0 (CH₂); 114,4 (Aryl-CH); 115,4 (Acryl-CH); 119,8 (Aryl-CH); 120,1 (Aryl-CH); 126,3 (Aryl-CH); 126,5 (2x Aryl-CH); 127,7 (2x Aryl-CH); 128,0 (Aryl-C); 137,5 (Aryl-C); 141,3 (Acryl-CH); 145,0 (Aryl-C); 146,9 (Aryl-C); 165,8 (CON)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3486 (m); 3085 (w); 3036 (w); 1644 (m); 1604 (m); 1575 (s); 1443 (m); 1409 (m); 1269 (s)

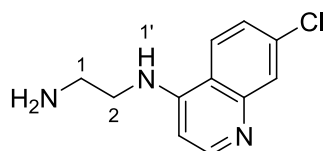
MS (EI; 70 eV)

m/z (%): 91 (12); 120 (47); 134 (15); 136 (17); 163 (65); 164 (16); 282 (11); 283 [M]⁺ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₇H₁₇NO₃: 283,1214; gefunden: 283,1208 [M]⁺

N¹-(7-Chlorchinolin-4-yl)ethan-1,2-diamin (276) SCHL-24443



C₁₁H₁₂ClN₃
(221,69 g/mol)

4,7-Dichloroquinolin (600 mg; 3,03 mmol) und Ethan-1,2-diamin (5,00 ml; 74,9 mmol) wurden 3 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde mit dem doppelten Volumen H₂O versetzt und der entstandene FS abgetrennt.

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Gelber FS (638 mg; 2,88 mmol; 95 %)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

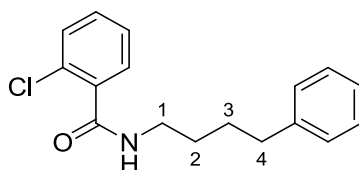
δ_H (ppm): 2,75 (br s; 2H; NH₂); 2,82 (t; *J* = 6,4 Hz; 2H; *H*-1); 3,22 (m; 1H; *H*-2); 7,27 (t; *J* = 4,92 Hz; 1H; *H*-1'); 6,46 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,41-7,44 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,78-7,79 (m; 1H; Aryl-*H*); 8,27-8,39 (m; 2H; Aryl-*H*)

Die gemessenen Werte entsprechen den Literaturdaten.^[493]

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 40,0 (C-1); 46,0 (C-2); 98,6 (Aryl-CH); 117,4 (Aryl-C); 123,9 (Aryl-CH); 124,1 (Aryl-CH); 127,4 (Aryl-CH); 133,3 (Aryl-C); 149,0 (Aryl-C); 150,3 (Aryl-C); 151,9 (Aryl-CH)

2-Chlor-N-(4-phenylbutyl)benzamid (127) SCHL-24458



C₁₇H₁₈ClNO
(287,78 g/mol)

Gemäß **AAV5c** aus 4-Phenylbutan-1-amin (0,20 ml; 1,27 mmol), 2-Chlorbenzoesäurechlorid (0,16 ml; 1,27 mmol) und Triethylamin (0,18 ml; 1,27 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 98:2)

Weißer FS (324 mg; 1,13 mmol; 89 %)

Smp.: 56 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,49-1,57 (m; 2H; CH₂); 1,61-1,69 (m; 2H; CH₂); 2,61 (t; *J* = 7,6 Hz; 2H; *H*-4); 3,25 (ps q; *J* = 6,7 Hz; 2H; *H*-1); 7,15-7,30 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,37-7,49 (m; 4H; Aryl-*H*); 8,40 (t; *J* = 5,4 Hz; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 28,3 (CH₂); 28,5 (CH₂); 34,7 (CH₂); 38,6 (C-1); 125,6 (Aryl-CH); 127,0 (Aryl-CH); 128,2 (4x Aryl-CH); 128,7 (Aryl-CH); 129,4 (Aryl-C); 129,7 (Aryl-CH); 130,5 (Aryl-CH); 137,3 (Aryl-C); 142,1 (Aryl-C); 166,12 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3270 (m); 3025 (w); 2943 (m); 2859 (w); 1633 (s); 1594 (w); 1547 (m); 1434 (m); 1313 (m); 751 (m); 696 (s)

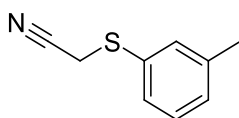
MS (ESI)

m/z (%): 288 [M(³⁵Cl)+H]⁺ (16); 305 [M(³⁵Cl)+NH₄]⁺ (100); 307 [M(³⁵Cl)+NH₄]⁺ (38)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₇H₁₈ClN₂Na: 310,0975; gefunden: 310,0963 [M(³⁵Cl)+Na]⁺

2-(*m*-Tolylsulfanyl)acetonitril (124) SCHL-24471



C₉H₉NS
(163,24 g/mol)

Die Reaktion wurde unter Inertgas durchgeführt. Eine auf 0 °C gekühlte Lösung von 60%igem NaH (280 mg; 6,99 mmol) in DMF wurde mit *m*-Thiokresol (0,76 ml; 6,35 mmol) versetzt und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde mit Chloracetonitril (0,40 ml; 6,35 mmol) und KI (32 mg; 0,19 mmol) versetzt und 2 h bei 60 °C gerührt. Das LM wurde entfernt, es wurde mit Et₂O versetzt und mit dem halben Volumen 1 M NaOH gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das LM entfernt.^[494]

Keine weitere Reinigung

Schwach rotes Öl (798 mg; 4,89 mmol; 77 %)

Unter ähnlichen Reaktionsbedingungen aus den gleichen Edukten und NaOH in H₂O von ISCHIDA et al. hergestellt (Keine Ausbeute angegeben).^[495]

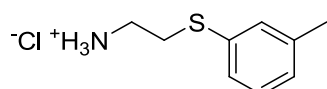
¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,14 (s; 3H; CH₃); 4,42 (s; 2H; CNCH₂); 6,79-6,92 (m; 3H; Aryl-H); 7,41-7,43 (m; 1H; Aryl-H)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 22,0 (CNCH₂); 22,5 (CH₃); 117,1 (CN); 124,9 (Aryl-CH); 126,1 (Aryl-CH); 126,3 (Aryl-CH); 129,1 (Aryl-CH); 136,6 (Aryl-C); 137,6 (Aryl-C)

2-(*m*-Tolylsulfanyl)ethan ammoniumchlorid (277) SCHL-24477



C₉H₁₄ClNS
(203,73 g/mol)

Gemäß **AAV8** aus **SCHL-24471** (758 mg; 4,64 mmol), 4 M Lösung von LiAlH₄ (0,58 ml; 2,32 mmol) in Et₂O, ausreichend H₂O und ausreichend 2 M Lösung von HCl in Et₂O

Reinigung: Waschen mit Et₂O

Weißer FS (823 mg; 4,04 mmol; 87 %)

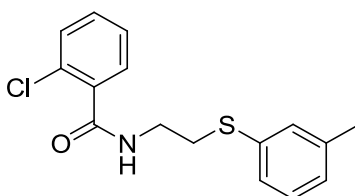
¹H-NMR (D₂O; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,39 (s; 3H; CH₃); 3,24 (t; *J* = 6,4 Hz; 2H; SCH₂); 3,31 (t; *J* = 6,2 Hz; 2H; NH₃CH₂); 7,24-7,40 (m; 4H; Aryl-H)

¹³C-NMR (D₂O; 100 MHz)

δ_C (ppm): 20,3 (CH₃); 30,6 (SCH₂); 38,1 (NH₃CH₂); 127,4 (Aryl-CH); 128,3 (Aryl-CH); 129,4 (Aryl-CH); 130,8 (Aryl-CH); 132,6 (Aryl-C); 134,0 (Aryl-C)

2-Chlor-*N*-(2-(*m*-tolylsulfanyl)ethyl)benzamid (126) SCHL-24489



C₁₆H₁₆ClNOS
(305,82 g/mol)

Gemäß **AAV5c** aus **SCHL-24477** (198 mg; 0,97 mmol), 2-Chlorbenzoesäurechlorid (0,12 ml; 0,97 mmol) und Triethylamin (0,27 ml; 1,93 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel
(DCM, Methanol; 95:5)

Weißer FS (251 mg; 0,82 mmol; 85 %)

Smp.: 51 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,29 (s; 3H; CH₃); 3,11 (t; *J* = 8,0; 6,3 Hz; 2H; SCH₂); 3,42 (td; *J* = 7,5 Hz; 6,0 Hz; 2H; NHCH₂); 7,01-7,03 (m; 1H; Aryl-H); 7,19-7,25 (m; 3H; Aryl-H); 7,38-7,51 (m; 4H; Aryl-H); 8,66 (t; *J* = 6,0 Hz; 1H; CONH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_{C} (ppm): 20,8 (CH_3); 31,2 (SCH_2); 38,6 (NHCH_2); 125,2 (Aryl-CH); 126,5 (Aryl-CH); 127,0 (Aryl-CH); 128,6 (Aryl-CH); 128,8 (Aryl-CH); 128,9 (Aryl-CH); 129,5 (Aryl-CH); 129,8 (Aryl-C); 130,7 (Aryl-CH); 135,3 (Aryl-C); 136,7 (Aryl-C); 138,4 (Aryl-C); 166,3 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm^{-1}): 3253 (m); 3084 (w); 2913 (w); 1639 (m); 1555 (m); 1427 (m); 1314 (m); 1291 (m); 755 (m); 683 (s)

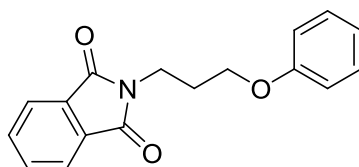
MS (ESI)

m/z (%): 306 [$\text{M}(^{35}\text{Cl})+\text{H}$] $^+$ (35); 308 [$\text{M}(^{37}\text{Cl})+\text{H}$] $^+$ (11); 323 [$\text{M}(^{35}\text{Cl})+\text{NH}_4$] $^+$ (100); 325 [$\text{M}(^{37}\text{Cl})+\text{NH}_4$] $^+$ (44); 328 [$\text{M}(^{35}\text{Cl})+\text{Na}$] $^+$ (34)

MS (ESI-HRMS)

m/z berechnet für $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{ClNOS}$: 306,0719; gefunden: 306,0686 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$

2-(3-Phenoxypropyl)isoindolin-1,3-dion (278) SCHL-24408



$\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{NO}_3$
(281,31 g/mol)

Eine Lösung von 3-Phenoxypropylbromid (1,00 ml; 6,35 mmol) und Kaliumphthalimid (1,24 g; 6,68 mmol) in DMF wurde 3 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Das LM wurde entfernt, und der Rückstand wurde mit 50%igem wässrigem Ethanol versetzt. Der entstandene FS wurde abgetrennt.

Reinigung: Waschen mit 50%igem wässrigem Ethanol

Weißer FS (1,75 g; 6,22 mmol; 98 %)

^1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

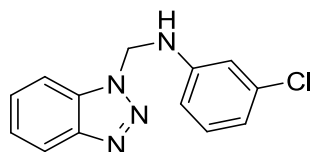
δ_{H} (ppm): 2,05 (m; 2H; CH_2); 3,76 (t; $J = 6,8$ Hz; 2H; CH_2); 3,99 (t; $J = 5,9$ Hz; 2H; CH_2); 6,77-6,79 (m; 2H; Aryl- H); 6,87-6,91 (m; 1H; Aryl- H); 7,20-7,25 (m; 2H; Aryl- H); 7,81-7,87 (m; 4H; Aryl- H)

Die gemessenen Werte entsprechen den Literaturdaten.^[496]

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_{C} (ppm): 27,5 (CH_2); 35,0 (NCH_2); 65,3 (OCH_2); 114,2 (2x Aryl-CH); 120,3 (Aryl-CH); 122,8 (2x Aryl-CH); 129,2 (2x Aryl-CH); 131,6 (2x Aryl-CH); 134,2 (2x Aryl-C); 158,3 (Aryl-C); 167,8 (2x CON)

Die gemessenen Werte entsprechen den Literaturdaten.^[496]

***N*-((1*H*-Benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-yl)methyl)-3-chloranilin (67) SCHL-24339**

C₁₃H₁₁ClN₄
(258,71 g/mol)

Eine Lösung von 3-Chloranilin (0,30 ml; 2,84 mmol), Paraformaldehyd (94 mg; 3,12 mmol) und 1*H*-Benzotriazol (338 mg; 2,84 mmol) in Ethanol wurde 2 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Der nach dem Abkühlen entstandene FS wurde abgetrennt.

Reinigung: Umkristallisation aus Ethanol

Weißer FS (485 mg; 1,88 mmol; 66 %)

Smp.: 181 °C

¹H-NMR (DMSO-*d*₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 6,14 (d; *J* = 7,2 Hz; 1H; CH₂); 6,61-6,64 (m; 1H; Aryl-*H*); 6,77-6,79 (m; 1H; Aryl-*H*); 6,88-6,89 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,07-7,11 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,37-7,41 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,52-7,58 (m; 2H; Aryl-*H*; NH); 8,01-8,04 (m; 2H; Aryl-*H*)

Die gemessenen Werte entsprechen den Literaturdaten.^[497]

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 56,3 (CH₂); 111,0 (Aryl-CH); 111,5 (Aryl-CH); 112,2 (Aryl-CH); 117,2 (Aryl-CH); 119,0 (Aryl-CH); 124,0 (Aryl-CH); 127,2 (Aryl-CH); 130,5 (Aryl-CH); 132,0 (Aryl-C); 133,6 (Aryl-C); 145,3 (Aryl-C); 147,3 (Aryl-C)

IR (ATR)

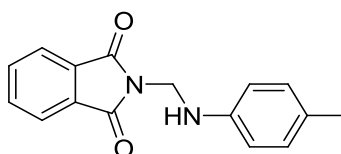
ν (cm⁻¹): 3299 (m); 3051 (w); 2955 (w); 1699 (m); 1589 (m); 1270 (m); 1151 (m); 735 (s); 681 (s)

MS (ESI)

m/z (%): 120 (100); 281 [M+Na]⁺ (32)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₃H₁₁ClN₄: 258,0672; gefunden: 258,0638 [M]⁺

2-((*p*-Tolylamino)methyl)isoindolin-1,3-dion (68) SCHL-24344

C₁₆H₁₄N₂O₂
(266,29 g/mol)

Eine Lösung von *p*-Toluidin (0,50 ml; 4,54 mmol), Paraformaldehyd (150 mg; 5,00 mmol) und Phthalimid (668 mg; 4,54 mmol) (338 mg; 2,84 mmol) in Ethanol wurde 2 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Der nach dem Abkühlen entstandene FS wurde abgetrennt.

Reinigung: Umkristallisation aus 50%igem wässrigem Ethanol Gelber FS (932 mg; 3,50 mmol; 77 %)

Smp.: 171 °C (Zers.) (Lit.: 174,5-175,5)^[498]

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,10 (s; 3H; CH₃); 4,97 (s; 2H; CH₂); 6,70-6,73 (m; 2H; Aryl-*H*); 6,87-6,89 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,82-7,89 (m; 4H; Aryl-*H*)

Das Signal für das N-*H* Atom konnte nicht detektiert werden.

Die gemessenen Werte entsprechen den Literaturdaten.^[498]

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 19,9 (CH₃); 47,3 (CH₂); 112,7 (2x Aryl-CH); 123,1 (2x Aryl-CH); 129,3 (Aryl-C und 2x Aryl-CH); 134,2 (2x Aryl-CH); 134,6 (2x Aryl-C); 143,5 (Aryl-C); 167,9 (2x CO)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3370 (w); 3040 (w); 2962 (w); 1707 (s); 1519 (m); 1395 (m); 1243 (m); 723 (s); 509 (s)

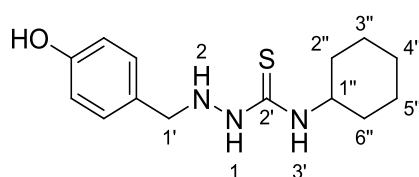
MS (ESI)

m/z (%): 120 (100); 267 [M+H]⁺ (56); 289 [M+Na]⁺ (68); 555 [2M + Na]⁺ (18)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₆H₁₄N₂O₂: 266,1055; gefunden: 266,1059 [M]⁺

4-Cyclohexyl-1-(4-hydroxybenzyl)thiosemicarbazid (65) SCHL-24356



C₁₄H₂₁N₃OS
(279,40 g/mol)

Gemäß **AAV13** aus **SCHL-24355** (351 mg; 1,27 mmol), NaBH₃CN (160 mg; 2,54 mmol) und Eisessig (0,22 ml; 3,81 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel (Et₂O) Weißer FS (103 mg; 0,37 mmol; 29 %)

Smp.: 165 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,07-1,68 (m; 10H; C-2''; C-3''; C-4''; C-5''; C-6''); 3,67 (d; *J* = 4,4 Hz; 2H; *H*-1'); 3,86-3,95 (m; 1H; *H*-1''); 5,18 (t; *J* = 4,3 Hz; 1H; *H*-1); 6,67-6,69 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,09-7,11 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,34 (d; *J* = 8,6 Hz; 1H; *H*-4); 8,54 (br s; 1H; *H*-2); 9,26 (s; 1H; Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 24,5 (C-3"; C-5"); 25,1 (C-4"); 32,0 (C-2"; C-6"); 51,1 (C-1"); 53,9 (C-1'); 115,0 (2x Aryl-CH); 128,2 (Aryl-C); 130,1 (2x Aryl-CH); 156,6 (Aryl-C); 179,3 (C-3)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3321 (w); 3181 (w); 3021 (w); 2917 (w); 2851 (w); 1568 (w); 1514 (m); 1445 (w); 1211 (m); 831 (w)

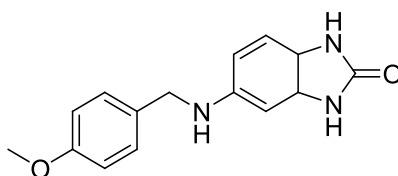
MS (ESI)

m/z (%): 280 [M+H]⁺ (100); 302 [M+Na]⁺ (77); 581 [2M +Na]⁺ (21)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₄H₂₁N₃OS: 279,1405; gefunden: 279,1436 [M]⁺

5-(4-Methoxybenzylamino)-1H-benzo[d]imidazol-2(3H)-on (62) SCHL-24359
--



C₁₅H₁₅N₃O₂
(269,30 g/mol)

Gemäß **AAV13** aus **SCHL-24357** (403 mg; 1,51 mmol), NaBH₃CN (190 mg; 3,02 mmol) und Eisessig (0,26 ml; 4,53 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel (Et₂O)

Weißer FS (159 mg; 0,59 mmol; 39 %)

Smp.: 267 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 3,72 (s; 3H; CH₃); 4,13 (d; *J* = 5,7 Hz; 2H; CH₂); 5,71 (t; *J* = 5,7 Hz; 1H; CH₂NH); 6,20-6,22 (m; 2H; Aryl-*H*); 6,60-6,62 (m; 1H; Aryl-*H*); 6,86-6,88 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,25-7,27 (m; 2H; Aryl-*H*); 10,01 (s; 1H; CONH); 10,15 (s; 1H; CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 46,7 (CH₂); 54,9 (CH₃); 93,8 (Aryl-CH); 105,3 (Aryl-CH); 108,7 (Aryl-CH); 113,6 (2x Aryl-CH); 120,5 (Aryl-C); 128,2 (2x Aryl-CH); 130,5 (Aryl-C); 132,2 (Aryl-C); 143,8 (Aryl-C); 155,4 (CO); 157,9 (Aryl-C)

IR (ATR)

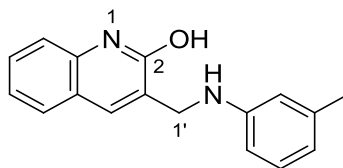
ν (cm⁻¹): 3397 (w); 3010 (m); 2955 (m); 2836 (m); 1747 (s); 1607 (m); 1509 (s); 1460 (s); 1179 (s); 1029 (s); 734 (s); 715 (s)

MS (ESI)

m/z (%): 121 (68); 270 [M+H]⁺ (100); 292 [M+Na]⁺ (31)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₅H₁₅N₃O₂: 269,1164; gefunden: 269,1175 [M]⁺

3-((*m*-Tolylamino)methyl)chinolin-2-ol (61) SCHL-24369

C₁₇H₁₆N₂O
(264,32 g/mol)

Gemäß **AAV13** aus **SCHL-24364** (302 mg; 1,15 mmol), NaBH₃CN (145 mg; 2,3 mmol) und Eisessig (0,21 ml; 3,45 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel (Et₂O)

Weißer FS (238 mg; 0,90 mmol; 78 %)

Smp.: 185 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,15 (s; 3H; CH₃); 4,13 (d; *J* = 5,4 Hz; 2H; *H*-1'); 5,99 (t; *J* = 6,0 Hz; 1H; *NH*); 6,35-6,41 (m; 3H; Aryl-*H*); 6,92-6,95 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,11-7,15 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,30-7,59 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,72 (s; 1H; Aryl-*H*); 11,84 (s; 1H; Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 21,3 (CH₃); 41,9 (C-1'); 109,3 (Aryl-CH); 112,8 (Aryl-CH); 114,8 (Aryl-CH); 116,9 (Aryl-C); 119,1 (Aryl-C); 121,8 (Aryl-CH); 127,4 (Aryl-CH); 128,8 (Aryl-CH); 129,5 (Aryl-CH); 131,1 (Aryl-CH); 134,6 (Aryl-CH); 137,7 (Aryl-C); 137,8 (Aryl-C); 148,4 (Aryl-C); 161,7 (C-2)

IR (ATR)

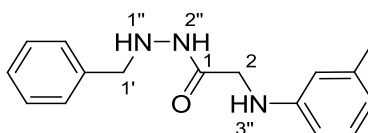
ν (cm⁻¹): 3340 (m); 3015 (w); 2971 (w); 2822 (w); 2445 (w); 1645 (s); 1603 (m); 1568 (m); 1425 (m); 770 (m); 747 (s); 696 (m)

MS (ESI)

m/z (%): 265 [M+H]⁺ (96); 287 [M+Na]⁺ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₇H₁₆N₂O: 264,1263; gefunden: 264,1265 [M]⁺

***N'*-Benzyl-2-(*m*-tolylamino)acetohydrazid (63) SCHL-24350**

C₁₆H₁₉N₃O
(269,34 g/mol)

Gemäß **AAV13** aus **SCHL-24353** (444 mg; 1,66 mmol), NaBH₃CN (209 mg; 3,32 mmol) und Eisessig (0,30 ml; 4,98 mmol)

Reinigung: SC an Kieselgel (Et₂O)

Weißer FS (272 mg; 1,01 mmol; 61 %)

Smp.: 76 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,17 (s; 3H; CH₃); 3,59 (d; *J* = 6,2 Hz; 2H; *H*-2); 3,85 (d; *J* = 5,0 Hz; 2H; *H*-1'); 5,21-5,26 (m; 1H; *H*-1''); 5,71 (t; *J* = 6,2 Hz; 1H; *H*-3''); 6,32-6,41 (m; 3H; Aryl-*H*); 6,93-6,97 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,23-7,38 (m; 5H; Aryl-*H*); 9,29 (d; *J* = 6,1 Hz; 1H; *H*-2'')

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 21,3 (CH₃); 45,3 (C-1'); 54,5 (C-2); 109,5 (Aryl-CH); 112,9 (Aryl-CH); 117,2 (Aryl-CH); 126,9 (Aryl-CH); 128,1 (2x Aryl-CH); 128,5 (2x Aryl-CH); 128,6 (Aryl-CH); 137,7 (Aryl-C); 138,6 (Aryl-C); 148,2 (Aryl-C); 169,5 (C-1)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3316 (m); 3230 (w); 3028 (w); 2920 (w); 1645 (s); 1605 (s); 1509 (m); 1481 (m); 746 (s); 688 (s)

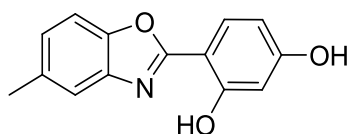
MS (ESI)

m/z (%): 270 [M+H]⁺ (49); 292 [M+Na]⁺ (100); 561 [2M+Na]⁺ (22)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₆H₁₉N₃O: 269,1528; gefunden: 269,1548 [M]⁺

4-(5-Methylbenzo[d]oxazol-2-yl)benzen-1,3-diol (70) SCHL-24372



C₁₄H₁₁NO₃
(241,24 g/mol)

Die Reaktion wurde unter Inertgas durchgeführt. Eine Lösung von **SCHL-24371** (303 mg; 1,25 mmol) in Eisessig wurde mit Blei(VI)-acetat (612 mg; 1,38 mmol) versetzt und 5 min bei RT gerührt. Anschließend wurde mit dem zehnfachen Volumen an H₂O versetzt. Der entstandene NS wurde abgetrennt.^[499]

Reinigung: SC an Kieselgel (Et₂O)

Roter FS (147 mg; 0,61 mmol; 49 %)

Smp.: 220 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

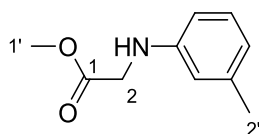
δ_H (ppm): 2,42 (s; 3H; CH₃); 6,46-6,54 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,18-7,23 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,54-7,82 (m; 3H; Aryl-*H*); 10,40 (s; 1H; Aryl-OH); 11,30 (s; 1H; Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 20,9 (CH₃); 101,9 (Aryl-C); 102,7 (Aryl-CH); 108,6 (Aryl-CH); 110,0 (Aryl-CH); 118,3 (Aryl-CH); 125,8 (Aryl-CH); 128,6 (Aryl-CH); 134,4 (Aryl-C); 139,6 (Aryl-C); 146,6 (Aryl-C); 159,7 (Aryl-C); 162,6 (Aryl-C); 162,9 (NCO)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3357 (w); 2923 (w); 1634 (m); 1600 (m); 1480 (m); 1415 (m); 1244 (m); 1145 (m); 796 (m)

MS (ESI)m/z (%): 242 [M+H]⁺ (100)**MS (EI-HRMS)**m/z berechnet für C₁₄H₁₁NO₃: 241,0739; gefunden: 241,0742 [M]⁺**Methyl-2-(*m*-tolylamino)acetat (86) SCHL-24351**C₁₀H₁₃NO₂
(179,22 g/mol)

Die Reaktion wurde unter Inertgas durchgeführt. Eine Lösung von *m*-Toluidin (2,00 ml; 18,5 mmol) in Aceton wurde mit Bromessigsäuremethylester (0,86 ml; 9,25 mmol) versetzt und 3 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das LM entfernt.

Reinigung: SC an Kieselgel (Et₂O)

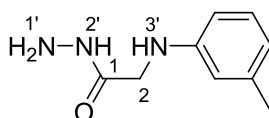
Leicht brauner FS (1,48 g; 8,26 mmol; 89 %)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,17 (s; 3H; *H*-2'); 3,64 (s; 3H; *H*-1'); 3,88 (d; *J* = 6,5 Hz; 2H; *H*-2); 5,90 (t; *J* = 6,4 Hz; 1H; *NH*); 6,31-6,40 (m; 3H; Aryl-*H*); 6,93-6,97 (m; 1H; Aryl-*H*)

Die gemessenen Werte entsprechen den Literaturdaten.^[500]**¹³C-NMR** (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 21,2 (*C*-2'); 44,5 (*C*-2); 51,4 (*C*-1'); 109,2 (Aryl-CH); 112,7 (Aryl-CH); 117,2 (Aryl-CH); 128,6 (Aryl-CH); 137,7 (Aryl-C); 147,9 (Aryl-C); 171,7 (*C*-1)

2-(*m*-Tolylamino)acetohydrazid (88) SCHL-24352C₉H₁₃N₃O
(179,22 g/mol)

Eine Lösung von **SCHL-24351** (1,04 g; 5,80 mmol) in Ethanol wurde mit einer 64%igen Lösung von Hydrazinhydrat (0,66 ml; 8,70 mmol) versetzt und 6 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde das LM entfernt.

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Weißer FS (936 mg; 5,22 mmol; 90 %)

Unter denselben Reaktionsbedingungen von FINGER et al. hergestellt (Keine Ausbeute angegeben).^[501]

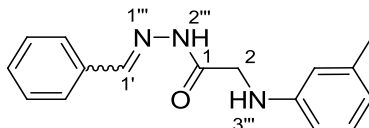
¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,17 (s; 3H; CH₃); 3,59 (d; *J* = 6,2 Hz; 2H; *H*-2); 4,23 (br s; 2H; *H*-1'); 5,73 (t; *J* = 6,1 Hz; 1H; *H*-3'); 6,32-6,39 (m; 3H; Aryl-*H*); 6,93-6,97 (m; 1H; Aryl-*H*); 9,04 (br s; 1H; *H*-2')

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 21,2 (Aryl-CH₃); 45,3 (C-2); 109,5 (Aryl-CH); 112,9 (Aryl-CH); 117,2 (Aryl-CH); 128,6 (Aryl-CH); 137,7 (Aryl-C); 148,2 (Aryl-C); 169,4 (C-1)

(*E/Z*)-*N'*-Benzyliden-2-(*m*-tolylamino)acetohydrazid (90) SCHL-24353



C₁₆H₁₇N₃O
(267,33 g/mol)

Gemäß **AAV12** aus **SCHL-24352** (812 mg; 4,53 mmol) und Benzaldehyd (0,46 ml; 4,53 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Gelber FS (799 mg; 3,00 mmol; 66 %)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 2,18 (s; 3H; CH₃); 3,78 und 4,21 (2 d; je 0,8H und 1,2H; *J* = 6,1 Hz; *J* = 5,9 Hz; *H*-2); 5,61 und 5,90 (2 t; je 0,4H und 0,6H; *J* = 5,9 Hz; *J* = 6,1 Hz; *H*-3'''); 6,37-6,45 (m; 3H; Aryl-*H*); 6,94-6,99 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,42-7,48 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,66-7,74 (m; 2H; Aryl-*H*); 8,02 und 8,25 (2 s; je 0,4H und 0,6H; *H*-1'); 11,42 und 11,51 (2 s; je 0,4H und 0,6H; *H*-2'')

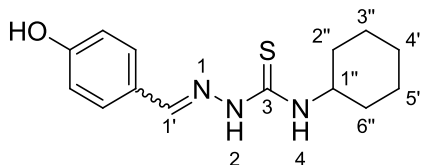
¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 21,2 (CH₃); 43,7 und 46,0 (C-2); 109,5 (Aryl-CH); 112,9 und 113,0 (Aryl-CH); 117,0 und 117,4 (Aryl-CH); 126,8 und 126,9 (2x Aryl-CH); 128,6 und 128,7 (3x Aryl-CH); 129,8 und 129,9 (Aryl-CH); 134,0 und 134,1 (Aryl-C); 137,7 und 137,8 (Aryl-C); 143,4 und 146,8 (C-1'); 148,2 und 148,3 (Aryl-C); 167,0 und 171,4 (C-1)

Die Verbindung wurde als Gemisch ihrer *E/Z*-Isomere isoliert. Für ein jeweils entsprechendes Atom der Isomere bedingen unterschiedliche Eigenschaften eine andere chemische Verschiebung und somit im NMR-Spektrum einen doppelten Satz an Signalen.

Das Verhältnis der Isomere beträgt 1:1,5.

(*E/Z*)-4-Cyclohexyl-1-(4-hydroxybenzaldehyd)thiosemicarbazon (93) SCHL-24355



C₁₄H₁₉N₃OS
(277,39 g/mol)

Gemäß **AAV12** aus 4-Cyclohexylthiosemicarbazid (504 mg; 2,38 mmol) und 4-Hydroxybenzaldehyd (291 mg; 2,38 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Ethanol

Gelber FS (528 mg; 1,90 mmol; 80 %)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,09-1,88 (m; 10H; 5x CH₂); 4,13-4,22 (m; 1H; *H*-1''); 6,79-6,81 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,57-7,61 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,84 (d; *J* = 8,6 Hz; 1H; *H*-4); 7,97 (s; 1H; *H*-1'); 9,88 (br s; 1H; *H*-2); 11,19 (s; 1H; Aryl-OH)

Die gemessenen Werte entsprechen den Literaturdaten.^[502]

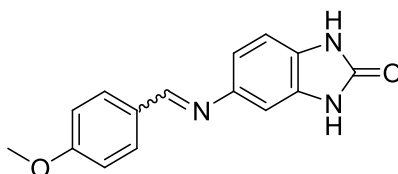
¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 24,8 (*C*-3''; *C*-5''); 25,1 (*C*-4''); 31,8 (*C*-2''; *C*-6''); 52,4 (*C*-1''); 115,5 (2x Aryl-CH); 124,9 (Aryl-C); 129,0 (2x Aryl-CH); 142,5 (*C*-1'); 159,2 (Aryl-C); 175,3 (*C*-3)

Die gemessenen Werte entsprechen den Literaturdaten.^[502]

Die Verbindung wurde als eines ihrer *E/Z*-Isomere isoliert und hinsichtlich ihrer Konfiguration nicht weiter charakterisiert.

(*E/Z*)-5-(4-Methoxybenzylidenamino)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2(3*H*)-on (84) SCHL-24357



C₁₅H₁₃N₃O₂
(267,28 g/mol)

Gemäß **AAV12** aus 5-Amino-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2(3*H*)-on (507 mg; 3,40 mmol) und 4-Methoxybenzaldehyd (0,41 ml; 3,40 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Gelber FS (654 mg; 2,45 mmol; 72 %)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

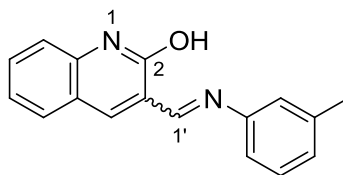
δ_H (ppm): 3,83 (s; 3H; CH₃); 6,88-7,06 (m; 5H; Aryl-*H*); 7,85-7,87 (m; 2H; Aryl-*H*); 8,54 (s; 1H; NCH); 10,62 (br s; 2H; 2x CONH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 55,3 (CH₃); 100,9 (Aryl-CH); 108,5 (Aryl-C); 114,1 (Aryl-CH); 114,3 (2x Aryl-CH); 128,0 (Aryl-C); 129,2 (Aryl-C); 130,0 (2x Aryl-CH); 130,3 (Aryl-CH); 145,0 (NCH); 155,5 (Aryl-C); 157,3 (Aryl-C); 161,5 (CONH)

Die Verbindung wurde als eines ihrer *E/Z*-Isomere isoliert und hinsichtlich ihrer Konfiguration nicht weiter charakterisiert.

(E/Z)-3-((*m*-Tolylimino)methyl)chinolin-2-ol (81) SCHL-24364



C₁₇H₁₄N₂O
(262,31 g/mol)

Gemäß **AAV12** aus **SCHL-24362** (415 mg; 2,40 mmol) und *m*-Toluidin (0,26 ml; 2,40 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Gelber FS (345 mg; 1,32 mmol; 55 %)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

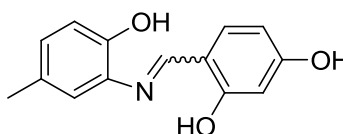
δ_H (ppm): 2,36 (s; 3H; CH₃); 7,05-7,10 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,22-7,37 (m; 3H; Aryl-*H*); 7,56-7,61 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,88-7,91 (m; 1H; Aryl-*H*); 8,67 (s; 1H; Aryl-*H*); 8,78 (s; 1H; *H*-1'); 12,12 (s; 1H; Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 20,8 (CH₃); 115,1 (Aryl-CH); 118,1 (Aryl-CH); 118,8 (Aryl-C); 121,2 (Aryl-CH); 122,3 (Aryl-CH); 126,3 (Aryl-C); 126,9 (Aryl-CH); 129,0 (Aryl-CH); 129,6 (Aryl-CH); 131,8 (Aryl-CH); 137,5 (Aryl-CH); 138,6 (Aryl-C); 139,7 (Aryl-C); 151,4 (Aryl-C); 154,9 (C-1'); 161,4 (C-2)

Die Verbindung wurde als eines ihrer *E/Z*-Isomere isoliert und hinsichtlich ihrer Konfiguration nicht weiter charakterisiert.

(E/Z)-4-((2-Hydroxy-5-methylphenylimino)methyl)benzen-1,3-diol (101) SCHL-24371



C₁₄H₁₃NO₃
(243,26 g/mol)

Gemäß **AAV12** aus 2-Amino-4-methylphenol (630 mg; 5,12 mmol) und 2,4-Dihydroxybenzaldehyd (707 mg; 5,12 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Toluol

Gelber FS (872 mg; 3,58 mmol; 70 %)

¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

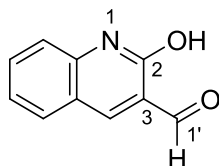
δ_H (ppm): 2,23 (s; 3H; CH₃); 6,21-6,22 (m; 1H; Aryl-*H*); 6,23-6,34 (m; 1H; Aryl-*H*); 6,80-6,88 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,13-7,14 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,34-7,36 (m; 1H; Aryl-*H*); 8,77 (s; 1H; NCH); 9,46 (s; 1H; Aryl-OH); 10,18 (s; 1H; Aryl-OH); 14,33 (s; 1H; Aryl-OH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 20,1 (CH₃); 102,6 (Aryl-CH); 107,4 (Aryl-CH); 112,2 (Aryl-C); 116,1 (Aryl-CH); 119,3 (Aryl-CH); 127,4 (Aryl-CH); 128,2 (Aryl-C); 133,9 (Aryl-CH); 134,0 (Aryl-C); 148,0 (Aryl-C); 159,8 (NCH); 162,3 (Aryl-C); 165,1 (Aryl-C)

Die Verbindung wurde als eines ihrer *E/Z*-Isomere isoliert und hinsichtlich ihrer Konfiguration nicht weiter charakterisiert.

2-Hydroxychinolin-3-carbaldehyd (79) SCHL-24362



$C_{10}H_7NO_2$
(173,17 g/mol)

Eine Lösung von 2-Chlorchinolin-3-carbaldehyd (492 mg; 2,57 mmol) wurde mit einer 4 M HCl-Lösung versetzt und 1 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Der nach dem Abkühlen entstandene FS wurde abgetrennt.^[503]

Reinigung: Waschen mit H_2O

Gelber FS (431 mg; 2,49 mmol; 97 %)

1H -NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz)

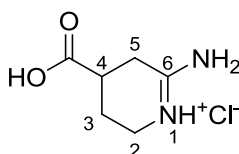
δ_H (ppm): 7,23-7,27 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,35-7,37 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,63-7,67 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,90-7,92 (m; 1H; Aryl-*H*); 8,45 (s; 1H; Aryl-*H*); 10,24 (s; 1H; *H*-1'); 12,20 (s; 1H; *OH*)

Die gemessenen Werte entsprechen den Literaturdaten.^[504]

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

δ_C (ppm): 115,3 (*C*-3); 118,0 (Aryl-CH); 122,5 (Aryl-*C*); 125,5 (Aryl-CH); 130,8 (Aryl-CH); 133,5 (Aryl-CH); 141,0 (Aryl-CH); 142,3 (Aryl-*C*); 161,3 (*C*-2); 189,6 (*C*-1')

6-Amino-4-carboxy-2,3,4,5-tetrahydropyridiniumchlorid (233) SCHL-24548



$C_6H_{11}ClN_2O_2$
(178,62 g/mol)

Eine Lösung von 2-Aminoisonicotinsäure (1,30 g; 9,41 mmol) und PtO_2 (280 mg; 1,23 mmol) in einem Gemisch von EtOH (9 Teile) und 32%iger HCl-Lösung (1 Teil) wurde 5 h unter Wasserstoff gerührt. Die Reaktionslösung wurde filtriert, und die LM wurden entfernt.^[461]

Reinigung: Waschen mit Et_2O

Weißer FS (1,53 g; 8,57 mmol; 91 %)

1H -NMR (D_2O ; 400 MHz)

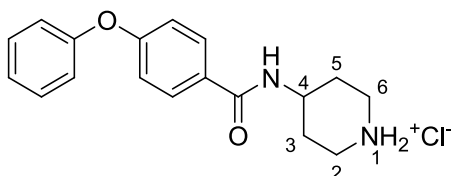
δ_H (ppm): 2,02-2,30 und 2,92 bis 2,98 und 3,49 bis 3,52 (3 m; je 2H und 2H und 2H; *H*-2; *H*-3; *H*-5); 3,08-3,18 (m; 1H; *H*-4)

Die gemessenen Werte entsprechen den Literaturdaten.^[461]

¹³C-NMR (D₂O; 100 MHz)

δ_C (ppm): 23,0 (CH₂); 27,3 (CH₂); 35,0 (C-4); 39,9 (C-2); 165,5 (C-6); 177,0 (COO)

4-(4-Phenoxybenzoylamino)piperidiniumchlorid (231) SCHL-24543



C₁₈H₂₁ClN₂O₂
(332,82 g/mol)

Gemäß **AAV9b** aus **SCHL-24539** (249 mg; 0,63 mmol) und einer 4 N Lösung von HCl in Dioxan

Reinigung: Gemäß AAV

Weißer FS (204 mg; 0,61 mmol; 97 %)

Smp.: 237 °C

¹H-NMR (D₂O; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,79-1,89 und 2,10-2,13 (2 m; je 2H und 2H; *H*-3; *H*-5); 3,10-3,17 und 3,50-3,53 (2 m; je 2H und 2H; *H*-2; *H*-6); 4,07 (tt; *J* = 11,1; 4,0 Hz; 1H; *H*-4); 6,78-6,84 (m; 4H; Aryl-*H*); 6,97-7,00 (m; 1H; Aryl-*H*); 7,14-7,18 (m; 2H; Aryl-*H*); 7,64-7,66 (m; 2H; Aryl-*H*)

¹³C-NMR (D₂O; 100 MHz)

δ_C (ppm): 28,0 (C-3; C-5); 43,1 (C-2; C-6); 45,0 (C-4); 117,4 (2x Aryl-CH); 119,6 (2x Aryl-CH); 124,3 (Aryl-CH); 127,8 (Aryl-C); 129,4 (2x Aryl-CH); 130,0 (2x Aryl-CH); 155,3 (Aryl-C); 160,2 (Aryl-C); 168,5 (CONH)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 2925 (w); 2791 (w); 2713 (m); 2010 (w); 1604 (m); 1581 (s); 1487 (m); 1360 (m); 1250 (s); 1177 (m); 847 (m)

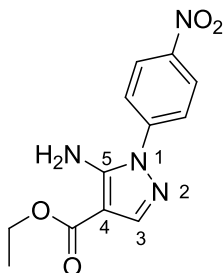
MS (ESI)

m/z (%): 297 [M(Base)+H]⁺ (100)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₈H₂₀N₂O₂: 296,1525; gefunden: 296,1529 [M(Base)]⁺

Ethyl-5-amino-1-(4-nitrophenyl)-1H-pyrazol-4-carboxylat (205) SCHL-24389



C₁₂H₁₂N₄O₄
(276,25 g/mol)

Eine Lösung von 2-Cyano-3-ethoxyacrylsäureethylester (1,20 g; 7,09 mmol) und (4-Nitrophenyl)hydrazin (1,09 mg; 7,09 mmol) in EtOH wurde 1 h unter Rückfluss zum Sieden er-

hitzt. Anschließend wurde mit dem doppelten Volumen H₂O versetzt und der entstandene FS abgetrennt.^[505]

Reinigung: Umkristallisation aus
Ameisensäure

Gelber FS (1,37 g; 4,96 mmol; 70 %)

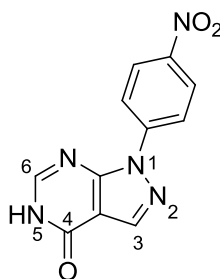
¹H-NMR (DMSO-d₆; 400 MHz)

δ_H (ppm): 1,28 (t; *J* = 7,1 Hz; 3H; CH₃); 4,23 (q; *J* = 7,1 Hz; 2H; CH₂); 6,69 (br s; 2H; NH₂); 7,82 (s; 1H; *H*-3); 7,87-7,89 (m; 2H; Aryl-*H*); 8,37-8,39 (m; 2H; Aryl-*H*)

¹³C-NMR (DMSO-d₆; 100 MHz)

δ_C (ppm): 14,4 (CH₃); 59,1 (CH₂); 95,3 (C-4); 123,4 (2x Aryl-CH); 124,9 (2x Aryl-CH); 141,5 (Pyrazol-CH); 143,2 (Aryl-C); 145,3 (Aryl-C); 150,5 (C-5); 163,3 (COO)

1-(4-Nitrophenyl)-1<i>H</i>-pyrazolo[3,4-<i>d</i>]pyrimidin-4(5<i>H</i>)-on (207) SCHL-24391



C₁₁H₇N₅O₃
(257,20 g/mol)

Eine Suspension von **SCHL-24389** (1,36 g; 4,92 mmol) in Formamid wurde 8 h bei 165 °C gerührt. Anschließend wurde mit dem doppelten Volumen H₂O versetzt und der entstandene FS abgetrennt.

Reinigung: Umkristallisation aus Ameisensäure

Roter FS (1,12 g; 4,35 mmol; 88 %)

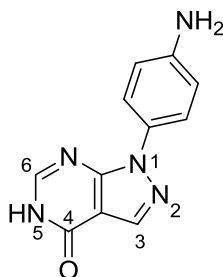
¹H-NMR (TFA-d; 400 MHz)

δ_H (ppm): 9,69-9,72 (m; 2H; Aryl-*H*); 10,14-10,16 (m; 2H; Aryl-*H*); 10,21 (s; 1H; Purin-CH); 10,31 (s; 1H; Purin-CH)

¹³C-NMR (TFA-d; 100 MHz)

δ_C (ppm): 108,7 (Aryl-C); 126,4 (2x Aryl-CH); 126,8 (2x Aryl-CH); 139,3 (C-3); 142,8 (Aryl-C); 149,0 (Aryl-C); 150,8 (Aryl-C); 153,5 (C-6); 162,1 (CO)

1-(4-Aminophenyl)-1*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-4(5*H*)-on (202 (202) SCHL-24394



C₁₁H₉N₅O
(227,22 g/mol)

Gemäß **AAV7** aus **SCHL-24391** (300 mg; 1,17 mmol) und SnCl₂ · 2 H₂O (1,32 g; 5,85 mmol)

Reinigung: Umkristallisation aus Aceton

Weißer FS (170 mg; 0,81 mmol; 64 %)

Smp.: 270 °C (Zers.)

¹H-NMR (TFA-d; 400 MHz)

δ_H (ppm): 9,38-9,41 (m; 2H; Aryl-*H*); 9,55-9,58 (m; 2H; Aryl-*H*); 10,17 (d; *J* = 1,7 Hz; 1H; Purin-*CH*); 10,25 (d; *J* = 1,7 Hz; 1H; Purin-*CH*)

Die Signale für N-*H* Atome konnten nicht detektiert werden.

¹³C-NMR (TFA-d; 100 MHz)

δ_C (ppm): 108,4 (Aryl-*C*); 126,3 (2x Aryl-*CH*); 128,1 (2x Aryl-*CH*); 131,1 (Aryl-*C*); 138,9 (2x Aryl-*C*); 151,0 (*C*-3); 153,0 (*C*-6); 161,9 (*C*-4)

IR (ATR)

ν (cm⁻¹): 3392 (w); 3161 (w); 3115 (w); 3041 (w); 2886 (w); 1726 (m); 1592 (m); 1517 (m); 1373 (m); 931 (m); 778 (m)

MS (ESI)

m/z (%): 228 [M+H]⁺ (100); 455 [2M+H]⁺ (49)

MS (EI-HRMS)

m/z berechnet für C₁₁H₉N₅O: 227,0807; gefunden: 227,0835 [M]⁺

E. Anhang

E.1. Abkürzungsverzeichnis

A.	<i>Anopheles</i>
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
Abb.	Abbildung
ACC	Acetyl-CoA Carboxylase
AcOH	Essigsäure
ACP	<i>Acyl-Carrier-Protein</i>
ACT	<i>Artemisinin-based combination therapy</i>
AIDS	<i>acquired immunodeficiency syndrome</i>
AIF	<i>apoptosis inducing factor</i>
Ala	Alanin
AMPA	α -Amino-(3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol)propansäure
Apaf-1	<i>Apoptotic protease activating factor 1</i>
Äq.	Äquivalent
Arg	Arginin
AS	Aminosäure
Asn	Asparagin
Asp	Asparaginsäure
ASP	<i>Astex Statistical Potential</i>
ATP	Adenosintriphosphat
ATR	<i>attenuated total reflection</i>
B.	<i>Brassica</i>
Bcl-2	<i>B-cell lymphoma 2</i>
BH	<i>Bcl-2 homology</i>
Bid	<i>BH3 interacting-domain death agonist</i>
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
bzw.	beziehungsweise
C.	<i>Cryptosporidium</i>
CAD	<i>caspase-activated DNase</i>
CC ₅₀	halbmaximale zytotoxische Konzentration
CDI	Carbonyldiimidazol
clog P	<i>calculated logarithm of octanol/water partition coefficient</i>
CoA	Koenzym-A
xCT	Cystein-Transporter
Cyt	Cytochrom
DC	Dünnschichtchromatographie
DCE	Dichlorethan
DCM	Dichlormethan
DDQ	2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone
DH	Dehydratase
DISC	death-inducing signalling complex
DMEM	<i>Dulbecco's minimal essential medium</i>
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DOXP	Desoxy-d-Xylulose-5-Phosphat
DTG	Deutsche Gesellschaft für Tropenmedizin
E.	<i>Escherichia</i>
EAAT	<i>excitatory amino acid transporter</i>
<i>EcENR</i>	<i>Escherichia coli</i> Enoyl-ACP-Reduktase
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid
EDDA	Ethylendiammoniumdiacetat
EI	Elektronenstoß-Ionisation
EMA	<i>European Medicines Agency</i>

ENR	Enoyl-ACP-Reduktase
EPR	Endoplasmatisches Retikulum
ER	Enoyl-Reduktase
ESI	Elektronenspray-Ionisation
Et ₂ O	Diethylether
Et ₃ N	Triethylamin
EtOAc	Ethylacetat
EtOH	Ethanol
EU	Europäische Union
FA	<i>fatty acid(s), Fettsäure(n)</i>
Fab	<i>fatty acid biosynthesis</i>
FADD	<i>Fas-associated protein with death domain</i>
FAS	<i>fatty acid synthesis</i>
Fas	<i>fragment apoptosis stimulator</i>
FasL	<i>fragment apoptosis stimulator ligand</i>
FasR	<i>fragment apoptosis stimulator receptor</i>
FDA	Food and Drug Administration
FPPIX	Ferriprotoporphyrin IX
FS	Feststoff
FV	Feinvakuum
G6PD	Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase
GA	genetischer Algorithmus
GIT	Gastrointestinaltrakt
Gln	Glutamin
Glu	Glutamat
Gly	Glycin
GPI	Glycosylphosphatidylinositol
HDL	<i>high density lipoprotein</i>
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)piperazin-1-yl)-ethansulfonsäure
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure
HFF	<i>human foreskin fibroblasts</i>
His	Histidin
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HRMS	<i>high resolution mass spectroscopy</i>
IAP	<i>inhibitors of apoptosis</i>
IC ₅₀	halbmaximale inhibitorische Konzentration
ICAD	<i>inhibitor of caspase activated DNase</i>
Ile	Isoleucin
IPP	Isopentenylidiphosphat
IR	Infrarot
kD	Kilodalton
konz.	konzentriert
KR	Ketoreduktase
KS	β-Ketoacyl-Synthase
LM	<i>Lösungsmittel</i>
LOX	Lipoxygenase
Lsm.	Lösungsmittel
m	<i>medium</i>
MAT	Malonyl-CoA-/Acetyl-CoA-ACP Transacylase
MeOH	Methanol
Met	Methionin
min	Minute
MMV	<i>Medicines for Malaria Venture</i>
MOE	Molecular Operating Environment
M _R	relative Molekülmasse
MS	Massenspektrometrie

MSP	<i>Merozoite Surface Protein 1</i>
MTT	2-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-3,5-diphenyl-2 <i>H</i> -tetrazol-3-iumbromid
NAD	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
NADH	reduzierte Form des Nicotinamid-Adenin-Dinukleotids
NADP	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
NADPH	reduzierte Form des Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphats
NMDA	<i>N</i> -Methyl-D-Aspartat
NMDAR	<i>N</i> -Methyl-D-Aspartat-Rezeptor
NMR	<i>nuclear magnetic resonance</i>
NOESY	<i>nuclear Overhauser enhancement and exchange spectroscopy</i>
NPPs	<i>new permeability pathways</i>
NT	Neurotransmitter.
<i>P.</i>	<i>Plasmodium</i>
p. a.	<i>pro analysi</i>
p. I.	<i>post infectionem</i>
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
PFA	Paraformaldehyd
<i>Pf</i> ENR	<i>Plasmodium falciparum</i> Enoyl-ACP-Reduktase
<i>Pf</i> LDH	<i>Plasmodium falciparum</i> Laktatdehydrogenase
Phe	Phenylalanin
PM	Plasmamembran
PPAR	Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor
ppm	<i>parts per million</i>
PQ	Primaquin
Pro	Prolin
PSF	Penicillin-Streptomycin-Fungizone
PV	Parasitophore Vakuole
PVM	Plasmamembran der Parasitophoren Vakuole
<i>RBM Partnership</i>	<i>Roll Back Malaria Partnership</i>
RF	unter Rückfluss zum Sieden erhitzt
RKI	Robert-Koch-Institut
RNA	<i>ribonucleic acid</i>
ROS	<i>reactive oxygen species</i>
RT	Raumtemperatur
s	<i>strong</i>
SC	Säulenchromatographie
Ser	Serin
SI	Selektivitätsindex
siRNA	<i>small interfering RNA</i>
Smac	<i>second mitochondria-derived activator of caspases</i>
Smp.	Schmelzpunkt
<i>T.</i>	<i>Toxoplasma</i>
tBid	<i>truncated BH3 interacting-domain death agonist</i>
TCL	Triclosan
TE	Thioesterase
TFA	<i>Trifluoroacetic acid</i>
<i>Tg</i> ENR	<i>Toxoplasma gondii</i> Enoyl-ACP-Reduktase
THF	Tetrahydrofuran
Thr	Threonin
TNF	Tumornekrosefaktor
TVN	Tubovesikuläres Netzwerk
Tyr	Tyrosin
u. a.	unter anderem
UN	<i>United Nations</i>
UNICEF	<i>United Nations Children's Fund</i>
UV	ultraviolett

VLCFA	<i>very long-chain fatty acid</i>
w	<i>weak</i>
WHO	World Health Organization
WPM	Plasmamembran der Wirtszelle
YFP	<i>yellow fluorescent protein</i>
z. B.	zum Beispiel
ZNS	zentrales Nervensystem

E.2. Literaturverzeichnis

- [1] G. Klebe, *Wirkstoffdesign. Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **2009**.
- [2] *Lancet* **2005**, 366, 1586.
- [3] R. B. M. I. Novartis, <http://www.rbm.who.int/ProgressImpactSeries/docs/report6/Novartis-en.pdf> [Internet] Abgerufen am 27.12.2011.
- [4] E. R. Derbyshire, M. M. Mota, J. Clardy, *PLoS Pathog* **2011**, 7, e1002178.
- [5] M. Gardner, N. Hall, E. Fung, O. White, M. Berriman, R. Hyman, J. Carlton, A. Pain, K. Nelson, S. Bowman et al., *Nature* **2002**, 419, 498–511.
- [6] J. M. Carlton, J. H. Adams, J. C. Silva, S. L. Bidwell, H. Lorenzi, E. Caler, J. Crabtree, S. V. Angiuoli, E. F. Merino, P. Amedeo et al., *Nature* **2008**, 455, 757–763.
- [7] B. U. Samuel, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2003**, 100, 14281–14286.
- [8] M. Schlitzer, *Pharm Unserer Zeit* **2011**, 40, 190–191.
- [9] World Health Organization, *Global Malaria Programme 2010, WORLD MALARIA REPORT 2010*.
- [10] L. Luzzatto, *Blood* **1979**, 54, 961–976.
- [11] World Health Organization, *FIFTY-NINTH WORLD HEALTH ASSEMBLY A59/9 2006, Sickle-cell anaemia*.
- [12] J. Sachs, P. Malaney, *Nature* **2002**, 415, 680–685.
- [13] T. Wellems, R. Fairhurst, *Nat Genet* **2005**, 37, 1160–1162.
- [14] P. Mocumbi, *Nature* **2004**, 430, 925.
- [15] Robert Koch Institut, *Epidemiologisches Bulletin Nr. 38/2010: Reiseassoziierte Infektionskrankheiten 2009, 2010*.
- [16] World Health Organization, *who.int* [Internet], http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Global_Malaria_2010.png; abgerufen am 25.02.2012.
- [17] Nobel Media AB, *The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1907*, http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1907/ [Internet] abgerufen am 04.12.2011.
- [18] M. Lanzer, H. Wickert, G. Krohne, L. Vincensini, C. Braun Breton, *Int J Parasitol* **2006**, 36, 23–36.
- [19] A. Laveran, *Bull Acad Natl Med Paris* **1880**, 9, 1235–1236.
- [20] A. Saul, *Nat Med* **2004**, 10, 455–457.
- [21] J. C. Beier, J. R. Davis, J. A. Vaughan, B. H. Noden, M. S. Beier, *Am J Trop Med Hyg* **1991**, 44, 564–570.
- [22] D. L. Medica, P. Sinnis, *Infect Immun* **2005**, 73, 4363–4369.
- [23] S. Sidjanski, J. P. Vanderberg, *Am J Trop Med Hyg* **1997**, 57, 426–429.
- [24] M. M. Mota, G. Pradel, J. P. Vanderberg, J. C. Hafalla, U. Frevert, R. S. Nussenzweig, V. Nussenzweig, A. Rodríguez, *Science* **2001**, 291, 141–144.
- [25] M. M. Mota, J. C. R. Hafalla, A. Rodriguez, *Nat Med* **2002**, 8, 1318–1322.
- [26] S. C. Shin, J. P. Vanderberg, J. A. Terzakis, *J Protozool* **1982**, 29, 448–454.
- [27] A. Sturm, R. Amino, C. van de Sand, T. Regen, S. Retzlaff, A. Rennenberg, A. Krueger, J.-M. Pollok, R. Menard, V. T. Heussler, *Science* **2006**, 313, 1287–1290.
- [28] M. E. Drew, R. Banerjee, E. W. Uffman, S. Gilbertson, P. J. Rosenthal, D. E. Goldberg, *J Biol Chem* **2008**, 283, 12870–12876.
- [29] C. Slomianny, G. Prensier, *J Protozool*, 37, 465–470.
- [30] D. A. Elliott, M. T. McIntosh, H. D. Hosgood, S. Chen, G. Zhang, P. Baevova, K. A. Joiner, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2008**, 105, 2463–2468.
- [31] M. F. Wiser, H. N. Lanners, R. A. Bafford, J. M. Favaloro, *Proc Natl Acad Sci U S A* **1997**, 94, 9108–9113.
- [32] E. R. Burns, S. Pollack, *In Vitro Cell. Dev. Biol* **1988**, 24, 481–486.
- [33] A. G. Maier, B. M. Cooke, A. F. Cowman, L. Tilley, *Nat Rev Microbiol* **2009**, 7, 341–354.
- [34] H. Ginsburg, M. Krugliak, O. Eidelman, Z. I. Cabantchik, *Mol. Biochem. Parasitol* **1983**, 8, 177–190.

- [35] H. Ginsburg, W. D. Stein, *Biosci. Rep* **1987**, 7, 455–463.
- [36] M. Krugliak, J. Zhang, H. Ginsburg, *Mol. Biochem. Parasitol* **2002**, 119, 249–256.
- [37] J. Mauritz, A. Esposito, H. Ginsburg, C. Kaminski, T. Tiffert, V. Lew, *PLoS Comput Biol* **2009**, 339.
- [38] L. Malaguarnera, S. Musumeci, *The Lancet Infectious Diseases* **2002**, 2, 472–478.
- [39] C. Chougnet, M. Troye-Blomberg, P. Deloron, L. Kabilan, J. P. Lepers, J. Savel, P. Perlmann, *J Immunol* **1991**, 147, 2295–2301.
- [40] J. Falisevac, *Bull. World Health Organ* **1974**, 50, 159–163.
- [41] M. E. Trigg, *South Med J* **1979**, 72, 593–599.
- [42] L. H. Miller, D. I. Baruch, K. Marsh, O. K. Doumbo, *Nature* **2002**, 415, 673–679.
- [43] R. Feachem, *The Malaria Elimination Group*, <http://www.malariaeliminationgroup.org/sites/default/files/fileuploads/AProspectusonMalariaElimination.pdf> [Internet] abgerufen am 25.02.2012.
- [44] K. MAITLAND, C. Newton, *Trends in Parasitology* **2005**, 21, 11–16.
- [45] K. Maitland, K. Marsh, *Acta Tropica* **2004**, 90, 131–140.
- [46] T. E. Taylor, W. J. Fu, R. A. Carr, R. O. Whitten, J. G. Mueller, N. G. Fosiko, S. Lewallen, N. G. Liomba, M. E. Molyneux, *Nat Med* **2004**, 10, 143–145.
- [47] World Health Organization, *Trans R Soc Trop Med Hyg* **2000**, 94 Suppl 1, S1-90.
- [48] L. Cui, A. A. Escalante, M. Imwong, G. Snounou, *Trends Parasitol* **2003**, 19, 220–226.
- [49] C. A. Guerra, R. E. Howes, A. P. Patil, P. W. Gething, T. P. van Boeckel, W. H. Temperley, C. W. Kabaria, A. J. Tatem, B. H. Manh, I. R. F. Elyazar et al., *PLoS Negl Trop Dis* **2010**, 4, e774.
- [50] R. N. Price, E. Tjitra, C. A. Guerra, S. Yeung, N. J. White, N. M. Anstey, *Am J Trop Med Hyg* **2007**, 77, 79–87.
- [51] C. J. Sutherland, N. Tanomsing, D. Nolder, M. Oguike, C. Jennison, S. Pukrittayakamee, C. Dolecek, T. T. Hien, V. E. do Rosário, A. P. Arez et al., *J Infect Dis* **2010**, 201, 1544–1550.
- [52] B. Singh, L. K. Sung, A. Matusop, A. Radhakrishnan, S. S. G. Shamsul, J. Cox-Singh, A. Thomas, D. J. Conway, *The Lancet* **2004**, 363, 1017–1024.
- [53] M. Schlitzer, *Pharmazeutische Zeitung* **2010**, 155, 16–23.
- [54] K.-S. Lee, J. Cox-Singh, B. Singh, *Malar J* **2009**, 8, 73.
- [55] D. L. Doolan, *Malaria methods and protocols*, Humana Press, Totowa, N.J., **2002**.
- [56] Z. M. Khan, J. P. Vanderberg, *Infect Immun* **1991**, 59, 2529–2534.
- [57] Robert Koch Institut, *Epidemiologisches Bulletin Nr. 20 /2000 Aktualisierte Fassung. RKI-Ratgeber für Ärzte*, **2006**.
- [58] J. M. Cohen, O. Sabot, K. Sabot, M. Gordon, I. Gross, D. Bishop, M. Odhiambo, Y. Ipuge, L. Ward, A. Mwita et al., *BMC Health Serv Res* **2010**, 10, S6.
- [59] Summary of 12th RBM Partnership Board Meeting, *RBM Partnership, WHO* **2007**, <http://www.rbm.who.int/partnership/board/meetings/docs/12pbmDecisions.pdf> [Internet] abgerufen am 17.12.2011.
- [60] Terms of Reference for RBM Global ACT Subsidy Task force, *RBM Partnership, WHO* **2007**, http://www.rbm.who.int/partnership/wg/wg_finance/docs/TOR_ACTtf.pdf [Internet] abgerufen am 17.12.2011.
- [61] M. Enserink, *Science* **2008**, 322, 1174.
- [62] A. M. Coll-Seck, RBM Partnership **2007**, Global ACT Subsidy - Role of RBM Partnership. <http://www.rbm.who.int/docs/APPMG.pdf> [Internet] Abgerufen am 17.12.2012.
- [63] B. Watkins, G. Kokwaro, M. Galinski, T. K. Mutabingwa, J.-F. Trape, *The Lancet* **2004**, 363, 1161–1162.
- [64] J. K. Baird, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2004**, 48, 4075–4083.
- [65] *International travel and health. Situation as on 1 January 2010*, World Health Organization, Geneva, **2010**.
- [66] Deutsche Gesellschaft für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit e.V., *Empfehlungen zur Malariavorbeugung* **2011**, http://www.klinikum.uni-heidelberg.de/fileadmin/inst_hygiene/tropenhygiene/Tropenambulanz/PDF/Malaria_2011.pdf [Internet] Abgerufen am 16.12.2011.
- [67] *Guidelines for the treatment of malaria*, World Health Organization, Geneva, **2010**.

- [68] E. A. Ashley, R. McGready, R. Hutagalung, L. Phaiphun, T. Slight, S. Proux, K. L. Thwai, M. Barends, S. Looareesuwan, N. J. White et al., *Clin Infect Dis* **2005**, *41*, 425–432.
- [69] D. Greenwood, *J Antimicrob Chemother* **1992**, *30*, 417–427.
- [70] L. M. Slutsker, C. O. Khoromana, D. Payne, C. R. Allen, J. J. Wirima, D. L. Heymann, L. Patchen, R. W. Steketee, *Bull. World Health Organ* **1990**, *68*, 53–59.
- [71] F. Nosten, F. ter Kuile, T. Chongsuphajaisiddhi, N. White, C. Luxemburger, H. Webster, M. Edstein, L. Phaiphun, K. Lay Thew, *The Lancet* **1991**, *337*, 1140–1143.
- [72] A. L. Fontanet, D. B. Johnston, A. M. Walker, W. Rooney, K. Thimasarn, D. Sturchler, M. Macdonald, M. Hours, D. F. Wirth, *Bull. World Health Organ* **1993**, *71*, 377–383.
- [73] F. Nosten, C. Luxemburger, F. O. ter Kuile, C. Woodrow, J. P. Eh, T. Chongsuphajaisiddhi, N. J. White, *J Infect Dis* **1994**, *170*, 971–977.
- [74] WHO, *Wkly Epidemiol Rec* **2007**, *82*, 360.
- [75] FDA, *NEWS RELEASE April 8, 2009, FDA Approves Coartem Tablets to Treat Malaria* **2009**, <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm149559.htm> [Internet] Abgerufen am 16.12.2011.
- [76] M. K. Laufer, P. C. Thesing, N. D. Eddington, R. Masonga, F. K. Dzinjalama, S. L. Takala, T. E. Taylor, C. V. Plowe, *N Engl J Med* **2006**, *355*, 1959–1966.
- [77] G. D. Shanks, M. D. Edstein, *Drugs* **2005**, *65*, 2091–2110.
- [78] I. Wilson, *Nature* **1993**, *366*, 638.
- [79] G. I. McFadden, M. E. Reith, J. Munholland, N. Lang-Unnasch, *Nature* **1996**, *381*, 482.
- [80] M. Parsons, A. Karnataki, J. E. Feagin, A. DeRocher, *Eukaryotic Cell* **2007**, *6*, 1081–1088.
- [81] R. R. Stanway, T. Witt, B. Zobiak, M. Aepfelbacher, V. T. Heussler, *Biol. Cell* **2009**, *101*, 415–30, 5 p following 430.
- [82] J. Wiesner, A. Reichenberg, S. Heinrich, M. Schlitzer, H. Jomaa, *Curr Pharm Des* **2008**, *14*, 855–871.
- [83] C. Y. Botté, F. Dubar, G. I. McFadden, E. Maréchal, C. Biot, *Chem Rev* **2011**.
- [84] R. J. Wilson, P. W. Denny, P. R. Preiser, K. Rangachari, K. Roberts, A. Roy, A. Whyte, M. Strath, D. J. Moore, P. W. Moore et al., *J Mol Biol* **1996**, *261*, 155–172.
- [85] E. L. Dahl, P. J. Rosenthal, *Antimicrob. Agents Chemother* **2007**, *51*, 3485–3490.
- [86] E. Yeh, J. L. DeRisi, B. Striepen, *PLoS Biol* **2011**, *9*, e1001138.
- [87] S. Baumeister, J. Wiesner, A. Reichenberg, M. Hintz, S. Bietz, O. S. Harb, D. S. Roos, M. Kordes, J. Friesen, K. Matuschewski et al., *PLoS ONE* **2011**, *6*, e19334.
- [88] W. Metzger, B. Mordmüller, W. Graninger, U. Bienzle, P. G. Kremsner, *Antimicrob. Agents Chemother* **1995**, *39*, 245–246.
- [89] W. C. COOPER, C. R. COATNEY, *Proc Soc Exp Biol Med* **1949**, *72*, 587.
- [90] D. Baudon, G. Martet, B. Pascal, J. Bernard, A. Keundjian, R. Laroche, *Trans R Soc Trop Med Hyg*, *93*, 302–303.
- [91] Office of the Assistant Secretary of Defense Memorandum, *Policy Memorandum on the Use of Mefloquine in Malaria Prophylaxis* **2009**.
- [92] P. G. Kremsner, P. Radloff, W. Metzger, E. Wildling, B. Mordmüller, J. Philipps, L. Jenne, M. Nkeyi, J. Prada, U. Bienzle, *Antimicrob. Agents Chemother* **1995**, *39*, 1603–1605.
- [93] R. Ortmann, J. Wiesner, A. Reichenberg, D. Henschker, E. Beck, H. Jomaa, M. Schlitzer, *Bioorg. Med. Chem. Lett* **2003**, *13*, 2163–2166.
- [94] Lell, R. Ruangweerayut, J. Wiesner, M. A. Missinou, A. Schindler, T. Baranek, M. Hintz, D. Hutchinson, H. Jomaa, P. G. Kremsner, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2003**, *47*, 735–738.
- [95] J. Wiesner, D. Henschker, D. Hutchinson, E. Beck, H. Jomaa, *Antimicrob Agents Chemother* **2002**, *46*, 2889–2894.
- [96] Zentopharm GmbH, *National Library of Medicine (US), ClinicalTrials.gov* [Internet] **NLM Identifier: NCT01361269**, <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01361269> - abgerufen am 03.01.2011.
- [97] Y. Tu, *Nat Med* **2011**, *17*, 1217–1220.
- [98] D. D. Duc, V. de, X. K. Nguyen, N. Le, P. A. Kager, B. van, *Am J Trop Med Hyg* **1994**, *51*, 785–790.

- [99] European Medicines Agency, *Press release EMA/CHMP/30246/2011* **2011**, http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Press_release/2011/06/WC500108018.pdf [Internet] abgerufen am 15.12.2011.
- [100] A. P. Alker, P. Lim, R. Sem, N. K. Shah, P. Yi, D. M. Bouth, R. Tsuyuoka, J. D. Maguire, T. Fandeur, F. Ariey et al., *Am J Trop Med Hyg* **2007**, 76, 641–647.
- [101] A. M. Dondorp, S. Yeung, L. White, C. Nguon, N. P. J. Day, D. Socheat, L. von Seidlein, *Nat Rev Microbiol* **2010**, 8, 272–280.
- [102] D. Beez, C. P. Sanchez, W. D. Stein, M. Lanzer, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2010**, 55, 50–55.
- [103] R. S. Nussenzweig, J. Vanderberg, H. Most, C. Orton, *Nature* **1967**, 216, 160–162.
- [104] J. B. Sacci, M. E. Schriefer, J. H. Resau, R. A. Wirtz, L. J. Detolla, R. B. Markham, A. F. Azad, *Proc Natl Acad Sci U.S.A* **1992**, 89, 3701–3705.
- [105] A. Tomas, *Parasitol Today* **1998**, 14, 245–249.
- [106] S. Festing, R. Wilkinson, *EMBO Rep* **2007**, 8, 526–530.
- [107] W. Trager, J. B. Jensen, *Science* **1976**, 193, 673–675.
- [108] C. C. Bass, F. M. Johns, *J Exp Med* **1912**, 16, 567–579.
- [109] W. Trager, J. B. Jensen, *Int J Parasitol* **1997**, 27, 989–1006.
- [110] C. Lambros, J. P. Vanderberg, *J Parasitol* **1979**, 65, 418–420.
- [111] H. K. Webster, J. M. Whaun, *Prog Clin Biol Res* **1981**, 55, 557–573.
- [112] J. D. Chulay, J. Haynes, C. L. Diggs, *Experimental Parasitology* **1983**, 55, 138–146.
- [113] Robert Koch Institut, *Toxoplasmose RKI Ratgeber für Ärzte, Erstveröffentlichung im Epidemiologischen Bulletin 40/2007. Aktualisierte Fassung* **2009**, <http://edoc.rki.de/series/rki-ratgeber-fuer-arzte/2009/PDF/toxoplasmose.pdf> [Internet] abgerufen am 24.01.2012.
- [114] C. Nicolle, L. Manceaux, *Arch Inst Pasteur* **1909**, 2, 97–103.
- [115] F. Plattner, D. Soldati-Favre, *Annu Rev Microbiol* **2008**, 62, 471–487.
- [116] W. Clauss, *Zoologie für Tiermediziner*, Enke, Stuttgart, **2005**.
- [117] K. Hartmann, J. Hein, *Infektionskrankheiten der Katze*, Schlütersche, Hannover, **2008**.
- [118] L. Jacobs, J. S. Remington, M. L. Melton, *J Parasitol* **1960**, 46, 11–21.
- [119] J. K. Frenkel, *J Infect Dis* **1970**, 122, 553–559.
- [120] J. P. Dubey, J. K. Lunney, S. K. Shen, O. C. Kwok, D. A. Ashford, P. Thulliez, *J Parasitol* **1996**, 82, 438–443.
- [121] P. Leirião, C. D. Rodrigues, S. S. Albuquerque, M. M. Mota, *EMBO Rep* **2004**, 5, 1142–1147.
- [122] A. Barragan, L. David Sibley, *Trends in Microbiology* **2003**, 11, 426–430.
- [123] S. P. Denyer, W. B. Hugo, *Hugo and Russell's pharmaceutical microbiology*, Wiley-Blackwell, Chichester, West Sussex, UK ;, Hoboken, NJ, **2011**.
- [124] J. J. Aramini, C. Stephen, J. P. Dubey, C. Engelstoft, H. Schwantje, C. S. Ribble, *Epidemiol Infect* **1999**, 122, 305–315.
- [125] F. Plattner, D. Soldati-Favre, *Annu Rev Microbiol* **2008**, 62, 471–487.
- [126] M.-a. Hakimi, R. Menard, *F1000 Biol Rep* **2010**.
- [127] M.-a. Hakimi, D. Cannella, *Trends Parasitol* **2011**, 27, 481–486.
- [128] V. Polonais, D. Soldati-Favre, *Biol Cell* **2010**, 102, 435–445.
- [129] A. P. Sinai, P. Webster, K. A. Joiner, *J Cell Sci* **1997**, 110 (Pt 17), 2117–2128.
- [130] K. Lingelbach, K. A. Joiner, *J Cell Sci* **1998**, 111 (Pt 11), 1467–1475.
- [131] S. C. Nair, C. F. Brooks, C. D. Goodman, A. Strurm, G. I. McFadden, S. Sundriyal, J. L. Anglin, Y. Song, S. N. J. Moreno, B. Striepen, *Journal of Experimental Medicine* **2011**, 208, 1547–1559.
- [132] J. G. Montoya, J. S. Remington, *CLIN INFECT DIS* **2008**, 47, 554–566.
- [133] L. M. Weiss, K. Kim, *Toxoplasma gondii. The model apicomplexan : perspectives and methods*, Academic Press, London, **2007**.
- [134] A. J. van der Ven, E. M. Schoondermark-van der Ven, W. Camps, W. J. Melchers, P. P. Koopmans, J. W. van der Meer, J. M. Galama, *J Antimicrob Chemother* **1996**, 38, 75–80.
- [135] L. Bosch-Driessen, F. Verbraak, M. Suttrop-Schulten, R. van, A. Klok, C. Hoyng, A. Rothova, *Am J Ophthalmol* **2002**, 134, 34–40.
- [136] P. Meneceur, M.-A. Bouldouyre, D. Aubert, I. Villena, J. Menotti, V. Sauvage, J.-F. Garin, F. Derouin, *Antimicrob Agents Chemother* **2008**, 52, 1269–1277.
- [137] D. E. Eyles, N. Coleman, *Antibiot & Chemother* **1953**, 3, 483–490.

- [138] R. McLeod, A. Khan, G. Noble, P. Latkany, J. Jalbrzikowski, K. Boyer, *Pediatr Infect Dis J* **2006**, 25, 270–272.
- [139] A. F. Cowman, B. S. Crabb, *Cell* **2006**, 124, 755–766.
- [140] H. G. Elmendorf, *The Journal of Cell Biology* **1994**, 124, 449–462.
- [141] S. A. Lauer, N. Ghori, K. Haldar, *Proc Natl Acad Sci U S A* **1995**, 92, 9181–9185.
- [142] G. Holz, *Bull World Health Organ* **1977**, 55, 237–248.
- [143] I. W. Sherman, *Microbiol Rev* **1979**, 43, 453–495.
- [144] L. Tawk, G. Chicanne, J.-F. Dubremetz, V. Richard, B. Payrastre, H. J. Vial, C. Roy, K. Wengelnik, *Eukaryotic Cell* **2010**, 9, 1519–1530.
- [145] M. H. Kedees, P. Gerold, N. Azzouz, T. Blaschke, H. Shams-Eldin, E. Muhlberger, A. A. Holder, H. D. Klenk, R. T. Schwarz, V. Eckert, *Eur J Cell Biol* **2000**, 79, 52–61.
- [146] O. Vielemeyer, M. McIntosh, K. Joiner, I. Coppens, *Mol Biochem Parasitol* **2004**, 135, 197–209.
- [147] N. M. Q. Palacpac, *Journal of Cell Science* **2004**, 117, 1469–1480.
- [148] A. N. Hoang, R. D. Sandlin, A. Omar, T. J. Egan, D. W. Wright, *Biochemistry* **2010**, 49, 10107–10116.
- [149] L. E. Hokin, M. R. Hokin, *Biochim Biophys Acta* **1963**, 67, 470–484.
- [150] G. N. Moll, H. J. Vial, M. L. Ancelin, d. Op, B. Roelofsen, D. van, *FEBS Lett* **1988**, 232, 341–346.
- [151] K. Haldar, *Infect Agents Dis* **1992**, 1, 254–262.
- [152] P. Tamez, S. Bhattacharjee, O. van, N. Hiller, M. Llinas, B. Balu, J. Adams, K. Haldar, *PLoS Pathog* **2008**, 4, e1000118.
- [153] R. C. Rock, *Comp Biochem Physiol, B* **1971**, 40, 657–669.
- [154] H. J. Vial, P. Eldin, D. Martin, L. Gannoun, M. Calas, M. L. Ancelin, *Novartis Found Symp* **1999**, 226, 74–83; discussion 82–8.
- [155] A. Couto, C. Caffaro, M. Uhrig, E. Kimura, V. Peres, E. Merino, A. Katzin, M. Nishioka, H. Nonami, R. Erra-Balsells, *Eur J Biochem* **2004**, 271, 2204–2214.
- [156] H. G. Elmendorf, K. Haldar, *EMBO J* **1993**, 12, 4763–4773.
- [157] F. Mi-Ichi, K. Kita, T. Mitamura, *Parasitology* **2006**, 133, 399–410.
- [158] F. Mi-Ichi, S. Kano, T. Mitamura, *Parasitology* **2007**, 134, 1671–1677.
- [159] A. Sharma, M. Yogavel, R. R. Akhouri, J. Gill, A. Sharma, *J Biol Chem* **2008**, 283, 24077–24088.
- [160] P. Grellier, D. Rigomier, V. Clavey, J. C. Fruchart, J. Schrevel, *J Cell Biol* **1991**, 112, 267–277.
- [161] M. Prudêncio, A. Rodriguez, M. M. Mota, *Nat Rev Microbiol* **2006**, 4, 849–856.
- [162] M. Yu, T. S. Kumar, L. J. Nkrumah, A. Coppi, S. Retzlaff, C. D. Li, B. J. Kelly, P. A. Moura, V. Lakshmanan, J. S. Freundlich et al., *Cell Host & Microbe* **2008**, 4, 567–578.
- [163] A. Vaughan, M. O'Neill, A. Tarun, N. Camargo, T. Phuong, A. Aly, A. Cowman, S. Kappe, *Cell Microbiol* **2009**, 11, 506–520.
- [164] S. Smith, A. Witkowski, A. K. Joshi, *Progress in Lipid Research* **2003**, 42, 289–317.
- [165] T. Maier, M. Leibundgut, N. Ban, *Science* **2008**, 321, 1315–1322.
- [166] *The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.3*, Schrödinger, LLC.
- [167] N. Singh, S. J. Wakil, J. K. Stoops, *J Biol Chem* **1984**, 259, 3605–3611.
- [168] F. P. Kuhajda, E. S. Pizer, J. N. Li, N. S. Mani, G. L. Frehywot, C. A. Townsend, *Proc Natl Acad Sci U S A* **2000**, 97, 3450–3454.
- [169] P. M. Alli, M. L. Pinn, E. M. Jaffee, J. M. McFadden, F. P. Kuhajda, *Oncogene* **2004**, 24, 39–46.
- [170] M. Chakravarthy, Z. Pan, Y. Zhu, K. Tordjman, J. Schneider, T. Coleman, J. Turk, C. Semenkovich, *Cell Metab* **2005**, 1, 309–322.
- [171] Y.-X. Wang, *Cell Res* **2010**, 20, 124–137.
- [172] M. Chakravarthy, I. Lodhi, L. Yin, R. Malapaka, H. Xu, J. Turk, C. Semenkovich, *Cell* **2009**, 138, 476–488.
- [173] G. V. Ronnett, A. M. Kleman, E.-K. Kim, L. E. Landree, Y. Tu, *Obesity* **2006**, 14, 201S.
- [174] M. Wu, S. B. Singh, J. Wang, C. Chung, G. Salituro, B. Karanam, S. Lee, M. Powles, K. Ellsworth, M. Lassman et al., *Proc Natl Acad Sci U S A* **2011**, 108, 5378–5383.
- [175] B.-H. Li, X.-F. Ma, X.-D. Wu, W.-X. Tian, *TBMB* **2006**, 58, 39–46.

- [176] S. Klaus, S. Pultz, C. Thone-Reineke, S. Wolfram, *Int J Obes (Lond)* **2005**, 29, 615–623.
- [177] M. Bose, J. D. Lambert, J. Ju, K. R. Reuhl, S. A. Shapses, C. S. Yang, *J Nutr* **2008**, 138, 1677–1683.
- [178] A.-S. Cho, S.-M. Jeon, M.-J. Kim, J. Yeo, K.-I. Seo, M.-S. Choi, M.-K. Lee, *Food Chem Toxicol* **2010**, 48, 937–943.
- [179] S. L. McGovern, B. K. Shoichet, *J Med Chem* **2003**, 46, 1478–1483.
- [180] S. L. McGovern, B. T. Helfand, B. Feng, B. K. Shoichet, *J Med Chem* **2003**, 46, 4265–4272.
- [181] M. Webb, S. Ebeler, *Biochem J* **2004**, 384, 527–541.
- [182] R. F. Waller, P. J. Keeling, R. G. Donald, B. Striepen, E. Handman, N. Lang-Unnasch, A. F. Cowman, G. S. Besra, D. S. Roos, G. I. McFadden, *Proc Natl Acad Sci U S A* **1998**, 95, 12352–12357.
- [183] T. B. Shows, C. A. Alper, D. Bootsma, M. Dorf, T. Douglas, T. Huisman, S. Kit, H. P. Klinger, C. Kozak, P. A. Lalley et al., *Cytogenet Cell Genet* **1979**, 25, 96–116.
- [184] Scientific Nomenclature, *Centers for Disease Control and Prevention 1600 Clifton Rd. Atlanta, G. 30333 USA*, <http://wwwnc.cdc.gov/eid/pages/scientific-nomenclature.htm> [Internet] abgerufen am 15.01.2012.
- [185] S. W. White, J. Zheng, Y.-M. Zhang, Rock, *Annu Rev Biochem* **2005**, 74, 791–831.
- [186] J. Mazumdar, B. Striepen, *Eukaryotic Cell* **2007**, 6, 1727–1735.
- [187] B. Foth, L. Stimmmler, E. Handman, B. Crabb, A. Hodder, G. I. McFadden, *Mol Microbiol* **2005**, 55, 39–53.
- [188] M.-J. Li, A.-Q. Li, H. Xia, C.-Z. Zhao, C.-S. Li, S.-B. Wan, Y.-P. Bi, X.-J. Wang, *J Biosci* **2009**, 34, 227–238.
- [189] E. B. Cahoon, J. Shanklin, *Proc Natl Acad Sci U S A* **2000**, 97, 12350–12355.
- [190] S. F. Altschul, T. L. Madden, A. A. Schaffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller, D. J. Lipman, *Nucleic Acids Res* **1997**, 25, 3389–3402.
- [191] M. W. Gray, *Science* **1999**, 283, 1476–1481.
- [192] L. Zhang, A. Joshi, S. Smith, *J Biol Chem* **2003**, 278, 40067–40074.
- [193] U. Hoja, S. Marthol, J. Hofmann, S. Stegner, R. Schulz, S. Meier, E. Greiner, E. Schweizer, *J Biol Chem* **2004**, 279, 21779–21786.
- [194] A. Kastaniotis, K. Autio, R. Sormunen, J. Hiltunen, *Mol Microbiol* **2004**, 53, 1407–1421.
- [195] A. Harington, C. J. Herbert, B. Tung, G. S. Getz, P. P. Slonimski, *Mol Microbiol* **1993**, 9, 545–555.
- [196] J. L. Guler, E. Kriegova, T. K. Smith, J. Lukes, P. T. Englund, *Mol Microbiol* **2008**, 67, 1125–1142.
- [197] S. Brody, C. Oh, U. Hoja, E. Schweizer, *FEBS Lett* **1997**, 408, 217–220.
- [198] A. Witkowski, A. Joshi, S. Smith, *J Biol Chem* **2007**, 282, 14178–14185.
- [199] X. Yi, N. Maeda, *Molecular and Cellular Biology* **2005**, 25, 8387–8392.
- [200] X. Yi, K. Kim, W. Yuan, L. Xu, H.-S. Kim, J. Homeister, N. Key, N. Maeda, *J Leukoc Biol* **2009**, 85, 146–153.
- [201] J. A. Mayr, F. A. Zimmermann, C. Fauth, C. Bergheim, D. Meierhofer, D. Radmayr, J. Zschocke, J. Koch, W. Sperl, *The American Journal of Human Genetics* **2011**, 89, 792–797.
- [202] C. Baldock, J. B. Rafferty, S. E. Sedelnikova, P. J. Baker, A. R. Stuitje, A. R. Slabas, T. R. Hawkes, D. W. Rice, *Science* **1996**, 274, 2107–2110.
- [203] S. Muench, S. Prigge, R. McLeod, J. Rafferty, M. Kirisits, C. Roberts, E. Mui, D. Rice, *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* **2007**, 63, 328–338.
- [204] J. B. Rafferty, J. W. Simon, C. Baldock, P. J. Artymiuk, P. J. Baker, A. R. Stuitje, A. R. Slabas, D. W. Rice, *Structure* **1995**, 3, 927–938.
- [205] R. J. Heath, N. Su, C. K. Murphy, C. O. Rock, *J Biol Chem* **2000**, 275, 40128–40133.
- [206] J. B. Rafferty, J. W. Simon, C. Baldock, P. J. Artymiuk, P. J. Baker, A. R. Stuitje, A. R. Slabas, D. W. Rice, *Structure* **1995**, 3, 927–938.
- [207] R. Perozzo, M. Kuo, A. b. S. Sidhu, J. Valiyaveetil, R. Bittman, W. Jacobs, D. Fidock, J. C. Sacchettini, *J Biol Chem* **2002**, 277, 13106–13114.
- [208] W. H. Miller, M. A. Seefeld, K. A. Newlander, I. N. Uzinskas, W. J. Burgess, D. A. Heerding, C. C. K. Yuan, M. S. Head, D. J. Payne, S. F. Rittenhouse et al., *J Med Chem* **2002**, 45, 3246–3256.
- [209] L. M. McMurtry, M. Oethinger, S. B. Levy, *Nature* **1998**, 394, 531–532.

- [210] C. W. Levy, A. Roujeinikova, S. E. Sedelnikova, P. J. Baker, A. R. Stuitje, A. R. Slabas, D. W. Rice, J. B. Rafferty, *Nature* **1999**, 398, 383–384.
- [211] D. A. Toke, C. E. Martin, *J Biol Chem* **1996**, 271, 18413–18422.
- [212] S. D. Kohlwein, S. Eder, C.-S. Oh, C. E. Martin, K. Gable, D. Bacikova, T. Dunn, *Molecular and Cellular Biology* **2001**, 21, 109–125.
- [213] C. S. Oh, D. A. Toke, S. Mandala, C. E. Martin, *J Biol Chem* **1997**, 272, 17376–17384.
- [214] Y. A. Moon, N. A. Shah, S. Mohapatra, J. A. Warrington, J. D. Horton, *J Biol Chem* **2001**, 276, 45358–45366.
- [215] Y.-A. Moon, J. Horton, *J Biol Chem* **2003**, 278, 7335–7343.
- [216] M. Ikeda, Y. Kanao, M. Yamanaka, H. Sakuraba, Y. Mizutani, Y. Igarashi, A. Kihara, *FEBS Lett* **2008**, 582, 2435–2440.
- [217] J. M. Fritzler, J. J. Millership, G. Zhu, *Eukaryotic Cell* **2007**, 6, 2018–2028.
- [218] S. H. Lee, J. L. Stephens, K. S. Paul, P. T. Englund, *Cell* **2006**, 126, 691–699.
- [219] S. Ramakrishnan, M. D. Docampo, J. I. MacRae, F. M. Pujol, C. F. Brooks, G. G. van Dooren, J. K. Hiltunen, A. J. Kastaniotis, M. J. McConville, B. Striepen, *Journal of Biological Chemistry* **2011**.
- [220] N. Surolia, A. Surolia, *Nat Med* **2001**, 7, 167–173.
- [221] R. McLeod, S. P. Muench, J. B. Rafferty, D. E. Kyle, E. J. Mui, M. J. Kirisits, D. G. Mack, C. W. Roberts, B. U. Samuel, R. E. Lyons et al., *Int J Parasitol* **2001**, 31, 109–113.
- [222] J. S. Freundlich, J. W. Anderson, D. Sarantakis, H.-M. Shieh, M. Yu, J.-C. Valderramos, E. Lucumi, M. Kuo, W. R. Jacobs, D. A. Fidock et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 5247–5252.
- [223] J. S. Freundlich, M. Yu, E. Lucumi, M. Kuo, H.-C. Tsai, J.-C. Valderramos, L. Karagoyozov, W. R. Jacobs, G. Schiehser, D. A. Fidock et al., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2006**, 16, 2163–2169.
- [224] D. Tasdemir, G. Lack, R. Brun, P. Rüedi, L. Scapozza, R. Perozzo, *J Med Chem* **2006**, 49, 3345–3353.
- [225] J. S. Freundlich, F. Wang, H.-C. Tsai, M. Kuo, H.-M. Shieh, J. W. Anderson, L. J. Nkrumah, J.-C. Valderramos, M. Yu, T. R. S. Kumar et al., *J Biol Chem* **2007**, 282, 25436–25444.
- [226] J. P. Daily, D. Scandfeld, N. Pochet, K. Le Roch, D. Plouffe, M. Kamal, O. Sarr, S. Mboup, O. Ndir, D. Wypij et al., *Nature* **2007**, 450, 1091–1095.
- [227] C. Bisanz, O. Bastien, D. Grando, J. Jouhet, E. Marechal, M.-F. Cesbron-Delauw, *Biochem J* **2006**, 394, 197–205.
- [228] J. Mazumdar, W. H. K. Masek, H. A. B. Striepen, *Proc Natl Acad Sci U S A* **2006**, 103, 13192–13197.
- [229] E. Zuther, J. J. Johnson, R. Haselkorn, R. McLeod, P. Gornicki, *Proc Natl Acad Sci U S A* **1999**, 96, 13387–13392.
- [230] N. Okamoto, T. Spurck, C. Goodman, G. I. McFadden, *Eukaryot Cell* **2009**, 8, 128–132.
- [231] D. A. Fidock, P. J. Rosenthal, S. L. Croft, R. Brun, S. Nwaka, *Nat Rev Drug Discov* **2004**, 3, 509–520.
- [232] M. Kuo, H. Morbidoni, D. Alland, S. Sneddon, B. Gourlie, M. Staveski, M. Leonard, J. Gregory, A. Janjigian, C. Yee et al., *J Biol Chem* **2003**, 278, 20851–20859.
- [233] H. Martin, H. Aebi, L. Ebner, U.S. Patent 3420892, **1962**.
- [234] H. Martin, H. Aebi, U.S. Patent 3060235, **1960**.
- [235] T. Furia, A. Schenkel, *Soap Chem Special* **1968**, 44, 47–50; 116–122.
- [236] L. M. McMurtry, M. Oethinger, S. B. Levy, *Nature* **1998**, 394, 531–532.
- [237] M. J. Stewart, S. Parikh, G. Xiao, P. J. Tonge, C. Kisker, *J Mol Biol* **1999**, 290, 859–865.
- [238] W. H. Ward, G. A. Holdgate, S. Rowsell, E. G. McLean, R. A. Pauptit, E. Clayton, W. W. Nichols, J. G. Colls, C. A. Minshull, D. A. Jude et al., *Biochemistry* **1999**, 38, 12514–12525.
- [239] C. W. Levy, A. Roujeinikova, S. E. Sedelnikova, P. J. Baker, A. R. Stuitje, A. R. Slabas, D. W. Rice, J. B. Rafferty, *Nature* **1999**, 398, 383–384.
- [240] K. Paul, C. Bacchi, P. Englund, *Eukaryot Cell* **2004**, 3, 855–861.
- [241] R. J. Heath, N. Su, C. K. Murphy, C. O. Rock, *J Biol Chem* **2000**, 275, 40128–40133.
- [242] European Comission, *Directorate-General for Health & Consumers Scientific Committee on Consumer Safety* **2010**, *Opinion on triclosan SCCP/1251/09*

http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_023.pdf
[Internet] abgerufen am 02.02.2011.

- [243] W. Baschong, S. Wittlin, K. A. Inglis, A. H. Fairlamb, S. L. Croft, T. R. S. Kumar, D. A. Fidock, R. Brun, *Nat Med* **2011**, *17*, 33–34.
- [244] A. Singh, N. Surolia, A. Surolia, *IUBMB Life* **2009**, *61*, 923–928.
- [245] H. Babich, J. P. Babich, *Toxicol Lett* **1997**, *91*, 189–196.
- [246] H. L. Zuckerbraun, H. Babich, R. May, M. C. Sinensky, *Eur J Oral Sci* **1998**, *106*, 628–636.
- [247] J. M. Lachapelle, D. Tennstedt, *Dermatologica* **1979**, *158*, 379–383.
- [248] H. N. Bhargava, P. A. Leonard, *Am J Infect Control* **1996**, *24*, 209–218.
- [249] G. Sandborgh-Englund, M. Adolfsson-Erici, G. Odham, J. Ekstrand, *J Toxicol Environ Health* **2006**, *69*, 1861–1873.
- [250] C. Queckenberg, J. Meins, B. Wachall, O. Doroshenko, D. Tomalik-Scharte, B. Bastian, M. Abdel-Tawab, U. Fuhr, *Antimicrob. Agents Chemother* **2009**, *54*, 570–572.
- [251] S. Takahata, M. Iida, T. Yoshida, K. Kumura, H. Kitagawa, S. Hoshiko, *J Antibiot (Tokyo)* **2007**, *60*, 123–128.
- [252] J. H. Yum, C. K. Kim, D. Yong, K. Lee, Y. Chong, C. M. Kim, J. M. Kim, S. Ro, J. M. Cho, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2007**, *51*, 2591–2593.
- [253] S. Takahata, M. Iida, T. Yoshida, K. Kumura, H. Kitagawa, S. Hoshiko, *J Antibiot* **2007**, *60*, 123–128.
- [254] G. Nicola, C. Smith, E. Lucumi, M. Kuo, L. Karagyozyov, D. Fidock, J. C. Sacchettini, R. Abagyan, *Biochem Biophys Res Commun* **2007**, *358*, 686–691.
- [255] G. Kumar, P. Parasuraman, S. K. Sharma, T. Banerjee, K. Karmodiya, N. Surolia, A. Surolia, *J Med Chem* **2007**, *50*, 2665–2675.
- [256] G. Kumar, T. Banerjee, N. Kapoor, N. Surolia, A. Surolia, *IUBMB Life* **2010**, *62*, 204–213.
- [257] F. Scala, E. Fattorusso, M. Menna, O. Taglialatela-Scafati, M. Tierney, M. Kaiser, D. Tasdemir, *Mar Drugs* **2010**, *8*, 2162–2174.
- [258] A. Yamada, H. Kitamura, K. Yamaguchi, S. FUKUZAWA, C. Kamijima, K. YAZAWA, M. KURAMOTO, G.-Y.-S. WANG, Y. FUJITANI, D. Uemura, *ChemInform* **1998**, *29*, no.
- [259] J. Richards, I. Huigens, T. Ballard, A. Basso, J. Cavanagh, C. Melander, *Chem Commun (Camb)* **2008**, 1698–1700.
- [260] D. Tasdemir, B. Topaloglu, R. Perozzo, R. Brun, R. O'Neill, N. Carballeira, X. Zhang, P. Tonge, A. Linden, P. Ruedi, *Bioorg Med Chem* **2007**, *15*, 6834–6845.
- [261] T. Banerjee, S. K. Sharma, N. Kapoor, V. Dwivedi, N. Surolia, A. Surolia, *IUBMB Life* **2011**, *63*, 1101–1110.
- [262] R. A. Slayden, R. E. Lee, J. W. Armour, A. M. Cooper, I. M. Orme, P. J. Brennan, G. S. Besra, *Antimicrob Agents Chemother* **1996**, *40*, 2813–2819.
- [263] G. Lack, E. Homberger-Zizzari, G. Folkers, L. Scapozza, R. Perozzo, *J Biol Chem* **2006**, *281*, 9538–9546.
- [264] S. K. Sharma, M. Kapoor, T. N. Ramya, S. Kumar, G. Kumar, R. Modak, S. Sharma, N. Surolia, A. Surolia, *J Biol Chem* **2003**, *278*, 45661–45671.
- [265] S. Wickramasinghe, K. Inglis, J. Urch, S. Muller, A. van, A. Fairlamb, *Biochem J* **2006**, *393*, 447–457.
- [266] H. S. Nakae, F. N. Dost, D. R. Buhler, *Toxicol Appl Pharmacol* **1973**, *24*, 239–249.
- [267] G. Martin-Bouyer, M. Toga, R. Lebreton, P. Stolley, J. Lockhart, *The Lancet* **1982**, *319*, 91–95.
- [268] A. J. Martinez, R. Boehm, M. G. Hadfield, *Acta Neuropathol* **1974**, *28*, 93–103.
- [269] D. Tasdemir, D. Sanabria, I. Lauinger, A. Tarun, R. Herman, R. Perozzo, M. Zloh, S. Kappe, R. Brun, N. Carballeira, *Bioorg Med Chem* **2010**, *18*, 7475–7485.
- [270] D. Tasdemir, G. Lack, R. Brun, P. Ruedi, L. Scapozza, R. Perozzo, *J Med Chem* **2006**, *49*, 3345–3353.
- [271] M. Schlitzer, G. Pradl, M. Dahse, *Unveröffentlichte Ergebnisse* **2009**.
- [272] S. Glinca, *Persönliche Kommunikation* **2012**.
- [273] G. Jones, P. Willett, R. Glen, *Journal of Molecular Biology* **1995**, *245*, 43–53.
- [274] G. Neudert, G. Klebe, *J Chem Inf Model* **2011**, *51*, 2731–2745.
- [275] M. Terashima, M. Ishii, Y. Kanaoka, *Synthesis* **1982**, *1982*, 484–485.
- [276] V. I. Kelarev, V. N. Koshelev, *Chem Heterocycl Compd* **1996**, *32*, 762–766.

- [277] R. S. Pottorf, N. K. Chadha, M. Katkevics, V. Ozola, E. Suna, H. Ghane, T. Regberg, M. R. Player, *Tetrahedron Lett* **2003**, *44*, 175–178.
- [278] A. Huxley, *Synlett* **2006**, *2006*, 2658–2660.
- [279] J. Chang, K. Zhao, S. Pan, *Tetrahedron Lett* **2002**, *43*, 951–954.
- [280] Y. Kawashita, N. Nakamichi, H. Kawabata, M. Hayashi, *Org Lett* **2003**, *5*, 3713–3715.
- [281] Chemical Computing Group Inc., *Molecular Operating Environment (MOE)*, **2010**.
- [282] P. A. Cossum, *Biopharm Drug Dispos* **1988**, *9*, 321–336.
- [283] G. Afanador J.T. Prigge, *Persönliche Kommunikation* **2011**.
- [284] C. Wolf, P. Roepe, A. De Dios, WO2009148659 (A2), **2009**.
- [285] K. Ekoue-Kovi, K. Yearick, D. Iwaniuk, J. Natarajan, J. Alumasa, D. de, P. Roepe, C. Wolf, *Bioorg Med Chem* **2009**, *17*, 270–283.
- [286] Y. Chan, M. Thomas, *Methods Enzymol* **2009**, *459*, 143–163.
- [287] F. Wong, A. Chen, D. Cane, C. Khosla, *Biochemistry* **2010**, *49*, 95–102.
- [288] J. L. Vennerstrom, E. O. Nuzum, R. E. Miller, A. Dorn, L. Gerena, P. A. Dande, W. Y. Ellis, R. G. Ridley, W. K. Milhous, *Antimicrob Agents Chemother* **1999**, *43*, 598–602.
- [289] J. B. Baell, G. A. Holloway, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 2719–2740.
- [290] T. Mendgen, C. Steuer, C. Klein, *J Med Chem* **2012**, *55*, 743–753.
- [291] J. Powers, D. Piper, Y. Li, V. Mayorga, J. Anzola, J. Chen, J. Jaen, G. Lee, J. Liu, M. Peterson et al., *J Med Chem* **2006**, *49*, 1034–1046.
- [292] V. Chandra, P. Huang, Y. Hamuro, S. Raghuram, Y. Wang, T. P. Burris, F. Rastinejad, *Nature* **2008**, 350–356.
- [293] A. C. Nottbohm, P. J. Hergenrother in *Wiley Encyclopedia of Chemical Biology* (Ed.: T. P. Begley), John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, NJ, USA, **2007**.
- [294] J. Helm, Y. Hu, L. Chen, B. Gross, S. Walker, *J Am Chem Soc* **2003**, *125*, 11168–11169.
- [295] H. Bakker, B. Kleczka, R. Gerardy-Schahn, F. Routier, *Biol Chem* **2005**, *386*, 657–661.
- [296] M. Schlitzer und S. Baumeister, *Unveröffentlichte Ergebnisse* **2007**.
- [297] T. Tomašić, N. Zidar, R. Šink, A. Kovač, D. Blanot, C. Contreras-Martel, A. Dessen, M. Müller-Premru, A. Zega, S. Gobec et al., *J Med Chem* **2011**, *54*, 4600–4610.
- [298] M. Schlitzer, *Dissertation*, Philipps Universität Marburg, Marburg, **1993**.
- [299] M. Schlitzer, *Persönliche Kommunikation* **2009**.
- [300] F. B. Dains, R. Irvin, C. G. Harrel, *J Am Chem Soc* **1921**, *43*, 613–618.
- [301] R. Rao, S. R. Singh, *J Indian Chem Soc* **1973**, *50*, 492–494.
- [302] G. Dyson, *J Chem Soc* **1924**, *125*, 1704.
- [303] D. Geffken, *Z Naturforsch B* **1987**, *42*, 1202–1206.
- [304] E. M. Yilmaz, İ. Doğan, *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 2184–2191.
- [305] L. H. Boudreau, J. Maillet, L. M. LeBlanc, J. Jean-François, M. Touaibia, N. Flamand, M. E. Surette, P. Proost, *PLoS ONE* **2012**, *7*, e31833.
- [306] M. Petersen, M. Simmonds, *Phytochemistry* **2003**, *62*, 121–125.
- [307] J. Yang, G. Marriner, X. Wang, P. Bowman, S. Kerwin, S. Stavchansky, *Bioorg Med Chem* **2010**, *18*, 5032–5038.
- [308] P. Rajan, I. Vedernikova, P. Cos, D. Vanden Berghe, K. Augustyns, A. Haemers, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2001**, *11*, 215–217.
- [309] M.-W. Hung, M.-S. Shiao, L.-C. Tsai, G.-G. Chang, T.-C. Chang, *Anticancer Res* **2003**, *23*, 4773–4780.
- [310] W. Zhou, H.-b. Li, C.-n. Xia, X.-m. Zheng, W.-x. Hu, *Bioorg Med Chem Lett* **2009**, *19*, 1861–1865.
- [311] I. Stankova, K. Chuchkov, S. Shishkov, K. Kostova, L. Mukova, A. S. Galabov, *Amino Acids* **2009**, *37*, 383–388.
- [312] M. R. Fesen, Y. Pommier, F. Leteurtre, S. Hiroguchi, J. Yung, K. W. Kohn, *Biochem Pharmacol* **1994**, *48*, 595–608.
- [313] J. Fu, K. Cheng, Z.-m. Zhang, R.-q. Fang, H.-l. Zhu, *Eur J Med Chem* **2010**, *45*, 2638–2643.
- [314] Statistische Ämter des Bundes und der Länder, *Demografischer Wandel in Deutschland, Heft 1 Ausgabe* **2011**.
- [315] K. Pogacic, *Neurodegener Dis* **2011**.
- [316] K. K. Jain, *The Handbook of Neuroprotection*, Humana Press, Nerw York, **2011**.

- [317] European Stroke Organisation (ESO), *Guidelines for Management of Ischaemic Stroke and Transient Ischaemic Attack 2008*, [Internet] http://www.eso-stroke.org/pdf/ESO%20Guidelines_update_Jan_2009.pdf abgerufen am 12.02.2012.
- [318] J. C. Drummond, P. M. Piyash, J. R. Kimbro, *The Lancet* **2000**, 356, 1032–1033.
- [319] K. Kieburtz, B. Ravina, *Nat Clin Pract Neurol* **2007**, 3, 240–241.
- [320] A. Shuaib, K. Lees, P. Lyden, J. Grotta, A. Davalos, S. Davis, H.-C. Diener, T. Ashwood, W. Wasiewski, U. Emeribe, *N Engl J Med* **2007**, 357, 562–571.
- [321] M. Dragunow, *Nat Rev Drug Discov* **2008**, 7, 659–666.
- [322] M. Jucker, *Nat Med* **2010**, 16, 1210–1214.
- [323] J. Yuan, M. Lipinski, A. Degterev, *Neuron* **2003**, 40, 401–413.
- [324] M. P. Mattson, *Nat Rev Mol Cell Biol* **2000**, 1, 120–129.
- [325] D. C. Rubinsztein, *Nature* **2006**, 443, 780–786.
- [326] D. Dickson, *Neurodegeneration. The molecular pathology of dementia and movement disorders*, Wiley-Blackwell, Chichester, West Sussex, **2011**.
- [327] O. Hardiman, C. P. Doherty, *Neurodegenerative disorders. A clinical guide*, Springer, London, New York, **2011**.
- [328] H. Foster, A. Hoffer, *Med Hypotheses* **2004**, 62, 177–181.
- [329] D. Harman, *Proc Natl Acad Sci U.S.A* **1981**, 78, 7124–7128.
- [330] G. Lenox, *The Lancet* **1989**, 333, 1266–1267.
- [331] *Neurological disorders. Public health challenges*, World Health Organization, Geneva, **2006**.
- [332] C. J. L. Murray, A. D. Lopez, *The global burden of disease. A comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries, and risk factors in 1990 and projected to 2020; summary*, Published by the Harvard School of Public Health on behalf of the World Health Organization and the World Bank; Distributed by Harvard University Press, [Cambridge, Mass.], **1996**.
- [333] C. L. Lomax, R. G. Brown, R. J. Howard, *Int J Geriatr Psychiatry* **2004**, 19, 1058–1064.
- [334] C. Jenkinson, M. Peters, M. B. Bromberg, *Quality of life measurement in neurodegenerative and related conditions*, Cambridge University Press, Cambridge, U.K. ;, New York, **2011**.
- [335] S. Herculano-Houzel, *Front Hum Neurosci* **2009**, 3.
- [336] O. P. Ottersen, J. Storm-Mathisen, *Glutamate*, Elsevier, Amsterdam ;, New York, **2000**.
- [337] M. A. Herman, C. E. Jahr, *J Neurosci* **2007**, 27, 9736–9741.
- [338] J. Lerma, A. S. Herranz, O. Herreras, V. Abaira, R. Martín del Río, *Brain Res* **1986**, 384, 145–155.
- [339] G. Nyitrai, K. Kekesi, G. Juhasz, *Curr Top Med Chem* **2006**, 6, 935–940.
- [340] J. W. Olney, *Science* **1969**, 164, 719–721.
- [341] D. W. Choi, *Neurosci Lett* **1985**, 58, 293–297.
- [342] D. W. Choi, *J Neurobiol* **1992**, 23, 1261–1276.
- [343] S. M. Rothman, *J Neurosci* **1985**, 5, 1483–1489.
- [344] J. W. Olney, M. T. Price, L. Samson, J. Labruyere, *Neurosci Lett* **1986**, 65, 65–71.
- [345] D. W. Choi, *J Neurosci* **1987**, 7, 369–379.
- [346] J. S. Hahn, E. Aizenman, S. A. Lipton, *Proc Natl Acad Sci U S A* **1988**, 85, 6556–6560.
- [347] R. Chamoun, D. Suki, S. Gopinath, J. Goodman, C. Robertson, *J Neurosurg* **2010**, 113, 564–570.
- [348] C. Dive, C. D. Gregory, D. J. Phipps, D. L. Evans, A. E. Milner, A. H. Wyllie, *Biochim Biophys Acta* **1992**, 1133, 275–285.
- [349] P. Vandenabeele, L. Galluzzi, B. Vanden, G. Kroemer, *Nat Rev Mol Cell Biol* **2010**, 11, 700–714.
- [350] C. Behl, J. B. Davis, R. Lesley, D. Schubert, *Cell* **1994**, 77, 817–827.
- [351] M. B. Spina, G. Cohen, *Proc Natl Acad Sci U S A* **1989**, 86, 1398–1400.
- [352] K. Miura, T. Ishii, Y. Sugita, S. Bannai, *Am J Physiol* **1992**, 262, C50-8.
- [353] R. J. Carmody, T. G. Cotter, *Redox Rep* **2001**, 6, 77–90.
- [354] T. H. Murphy, R. L. Schnaar, J. T. Coyle, *FASEB J* **1990**, 4, 1624–1633.
- [355] R. Raghupathi, D. I. Graham, T. K. McIntosh, *J Neurotrauma* **2000**, 17, 927–938.
- [356] E. Griesmaier, G. Schlager, K. Wegleiter, M. Hermann, M. Urbanek, G. Simbruner, M. Keller, *Brain Res* **2010**, 1355, 31–40.

- [357] D. Pohl, P. Bittigau, M. J. Ishimaru, D. Stadthaus, C. Hubner, J. W. Olney, L. Turski, C. Ikonomidou, *Proc Natl Acad Sci U S A* **1999**, 96, 2508–2513.
- [358] D. J. Selkoe, *Nat Cell Biol* **2004**, 6, 1054–1061.
- [359] K. A. Roth, *J Neuropathol Exp Neurol* **2001**, 60, 829–838.
- [360] W. Tatton, R. Chalmers-Redman, D. Brown, N. Tatton, *Ann Neurol* **2003**, 53 Suppl 3, S61–70; discussion S70–2.
- [361] E. Sofic, P. Riederer, H. Heinsen, H. Beckmann, G. P. Reynolds, G. Hebenstreit, M. B. Youdim, *J Neural Transm* **1988**, 74, 199–205.
- [362] K. L. Double, M. Gerlach, M. B. Youdim, P. Riederer, *J Neural Transm Suppl* **2000**, 37–58.
- [363] S. Altamura, M. Muckenthaler, *J Alzheimers Dis* **2009**, 16, 879–895.
- [364] J. F. Collingwood, A. Mikhaylova, M. Davidson, C. Batich, W. J. Streit, J. Terry, J. Dobson, *J Alzheimers Dis* **2005**, 7, 267–272.
- [365] C. Hidalgo, M. Carrasco, P. Munoz, M. Nunez, *Antioxid Redox Signal* **2007**, 9, 245–255.
- [366] S. W. G. Tait, D. R. Green, *Nat Rev Mol Cell Biol* **2010**, 11, 621–632.
- [367] H.-E. Kim, F. Du, M. Fang, X. Wang, *Proc Natl Acad Sci U S A* **2005**, 102, 17545–17550.
- [368] S. Landshamer, M. Hoehn, N. Barth, S. Duvezin-Caubet, G. Schwake, S. Tobaben, I. Kazhdan, B. Becattini, S. Zahler, A. Vollmar et al., *Cell Death Differ* **2008**, 15, 1553–1563.
- [369] N. Joza, J. Pospisilik, E. Hangen, T. Hanada, N. Modjtahedi, J. Penninger, G. Kroemer, *Ann NY Acad Sci* **2009**, 1171, 2–11.
- [370] C. Adrain, *The EMBO Journal* **2001**, 20, 6627–6636.
- [371] A. M. Verhagen, D. L. Vaux, *Apoptosis* **2002**, 7, 163–166.
- [372] A. Ashkenazi, V. M. Dixit, *Science* **1998**, 281, 1305–1308.
- [373] A. Mandic, K. Viktorsson, L. Strandberg, T. Heiden, J. Hansson, S. Linder, M. Shoshan, *Mol Cell Biol* **2002**, 22, 3003–3013.
- [374] B. D'Orsi, H. Bonner, L. Tuffy, H. Dussmann, I. Woods, M. Courtney, M. Ward, J. Prehn, *J Neurosci* **2012**, 32, 1847–1858.
- [375] B. Polster, G. Basanez, A. Etxebarria, J. Hardwick, D. Nicholls, *J Biol Chem* **2005**, 280, 6447–6454.
- [376] K. Bayles, *Trends Microbiol* **2003**, 11, 306–311.
- [377] K. A. Jellinger, *J Cell Mol Med* **2010**, 14, 457–487.
- [378] R. M. Gibson, *BMJ* **2001**, 322, 1539–1540.
- [379] P. Bittigau, M. Sifringer, K. Genz, E. Reith, D. Pospischil, S. Govindarajalu, M. Dzielko, S. Pesditschek, I. Mai, K. Dikranian et al., *Proc Natl Acad Sci U S A* **2002**, 99, 15089–15094.
- [380] P. Kermer, J. Liman, J. Weishaupt, M. Bahr, *Neurodegener Dis* **2004**, 1, 9–19.
- [381] J. Zha, H. Harada, K. Osipov, J. Jockel, G. Waksman, S. J. Korsmeyer, *J Biol Chem* **1997**, 272, 24101–24104.
- [382] M. Sattler, H. Liang, D. Nettesheim, R. P. Meadows, J. E. Harlan, M. Eberstadt, H. S. Yoon, S. B. Shuker, B. S. Chang, A. J. Minn et al., *Science* **1997**, 275, 983–986.
- [383] R. Youle, A. Strasser, *Nat Rev Mol Cell Biol* **2008**, 9, 47–59.
- [384] H. Zha, C. Aime-Sempe, T. Sato, J. C. Reed, *J Biol Chem* **1996**, 271, 7440–7444.
- [385] J. J. Chou, H. Li, G. S. Salvesen, J. Yuan, G. Wagner, *Cell* **1999**, 96, 615–624.
- [386] K. Wang, X. M. Yin, D. T. Chao, C. L. Milliman, S. J. Korsmeyer, *Genes Dev* **1996**, 10, 2859–2869.
- [387] J. M. McDonnell, D. Fushman, C. L. Milliman, S. J. Korsmeyer, D. Cowburn, *Cell* **1999**, 96, 625–634.
- [388] S. Tobaben, J. Grohm, A. Seiler, M. Conrad, N. Plesnila, C. Culmsee, *Cell Death Differ* **2011**, 18, 282–292.
- [389] L. Cabon, P. Galan-Malo, A. Bouharrou, L. Delavallee, M.-N. Brunelle-Navas, H. K. Lorenzo, A. Gross, S. A. Susin, *Cell Death Differ* **2012**, 19, 245–256.
- [390] J. Grohm, N. Plesnila, C. Culmsee, *Brain Behav Immun* **2010**, 24, 831–838.
- [391] B. Becattini, S. Sareth, D. Zhai, K. Crowell, M. Leone, J. Reed, M. Pellicchia, *Chem Biol* **2004**, 11, 1107–1117.
- [392] B. Becattini, C. Culmsee, M. Leone, D. Zhai, X. Zhang, K. Crowell, M. Rega, S. Landshamer, J. Reed, N. Plesnila et al., *Proc Natl Acad Sci U S A* **2006**, 103, 12602–12606.
- [393] N. Plesnila, S. Zinkel, D. A. Le, S. Amin-Hanjani, Y. Wu, J. Qiu, A. Chiarugi, S. S. Thomas, D. S. Kohane, S. J. Korsmeyer et al., *Proc Natl Acad Sci U S A* **2001**, 98, 15318–15323.

- [394] X. Luo, I. Budihardjo, H. Zou, C. Slaughter, X. Wang, *Cell* **1998**, *94*, 481–490.
- [395] S. J. Korsmeyer, X.-M. Yin, K. Wang, A. Gross, Y. Zhao, S. Zinkel, B. Klocke, K. A. Roth, *Nature* **1999**, *400*, 886–891.
- [396] M. O. Kwon, P. Herrling, *Neurodegener Dis* **2006**, *3*, 148–86.
- [397] V. Pogacici, P. Herrling, *Neurodegener Dis* **2007**, *4*, 443–486.
- [398] K. Pogacic, P. Herrling, *Neurodegener Dis* **2009**, *6*, 165–212.
- [399] V. Pogacici, P. Herrling, *Neurodegener Dis* **2009**, *6*, 37–86.
- [400] K. Pogacic, P. Herrling, *Neurodegener Dis* **2011**, *8*, 44–94.
- [401] D. Begley, *Pharmacol Ther* **2004**, *104*, 29–45.
- [402] W. Loscher, H. Potschka, *NeuroRx* **2005**, *2*, 86–98.
- [403] D. S. Miller, *Trends in Pharmacological Sciences* **2010**, *31*, 246–254.
- [404] S. Lipton, *Nat Rev Drug Discov* **2006**, *5*, 160–170.
- [405] W. J. Koroshetz, M. A. Moskowitz, *Trends Pharmacol Sci* **1996**, *17*, 227–233.
- [406] S. L. Hickenbottom, J. Grotta, *Semin Neurol* **1998**, *18*, 485–492.
- [407] C. Ikonomidou, L. Turski, *Lancet Neurol* **2002**, *1*, 383–386.
- [408] D. Gladstone, S. Black, A. Hakim, *Stroke* **2002**, *33*, 2123–2136.
- [409] S. H. Curry, *Ann NY Acad Sci* **2003**, *993*, 69–74; discussion 79–81.
- [410] J. A. Obeso, *Nat Med* **2010**, *16*, 1372.
- [411] W. Phillips, A. Michell, H. Pruess, R. A. Barker, *Methods Mol Biol* **2009**, *549*, 137–155.
- [412] K. Duff, F. Suleman, *Brief Funct Genomic Proteomic* **2004**, *3*, 47–59.
- [413] D. Langui, F. Lachapelle, C. Duyckaerts, *Med Sci (Paris)* **2007**, *23*, 180–186.
- [414] P. Calissano, C. Matrone, G. Amadoro, *Commun Integr Biol (Communicative & integrative biology)* **2009**, *2*, 163–169.
- [415] M. V. Aksenova, M. Y. Aksenov, C. F. Mactutus, R. M. Booze, *Curr Neurovasc Res* **2005**, *2*, 73–89.
- [416] F. Kamme, R. Salunga, J. Yu, D.-T. Tran, J. Zhu, L. Luo, A. Bittner, H.-Q. Guo, N. Miller, J. Wan et al., *J Neurosci* **2003**, *23*, 3607–3615.
- [417] J. E. Galvin, *Neurochem Res* **2004**, *29*, 1041–1051.
- [418] J. E. Galvin, S. D. Ginsberg, *Alzheimer Dis Assoc Disord*, *18*, 264–269.
- [419] T. H. Murphy, M. Miyamoto, A. Sastre, R. L. Schnaar, J. T. Coyle, *Neuron* **1989**, *2*, 1547–1558.
- [420] S. Oppermann, *Persönliche Kommunikation* **2011**.
- [421] P. Maher, J. B. Davis, *J Neurosci* **1996**, *16*, 6394–6401.
- [422] S. Tan, M. Wood, P. Maher, *J Neurochem* **1998**, *71*, 95–105.
- [423] D. T. Vistica, P. Skehan, D. Scudiero, A. Monks, A. Pittman, M. R. Boyd, *Cancer Res* **1991**, *51*, 2515–2520.
- [424] Aegea Therapeutics, *National Library of Medicine (US), ClinicalTrials.gov* [Internet] **NLM Identifier: NCT00891683**, <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00891683> - abgerufen am 15.11.2011.
- [425] Trophos, *National Library of Medicine (US), ClinicalTrials.gov* [Internet] **NLM Identifier: NCT00496457**, <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00496457> - abgerufen am 16.11.2011.
- [426] T. Maurice, T.-P. Su, *Pharmacology & Therapeutics* **2009**, *124*, 195–206.
- [427] W. R. Kem, *Behav. Brain Res.* **2000**, *113*, 169–181.
- [428] A. Colombo, A. Bastone, C. Ploia, A. Scip, M. Salmona, G. Forloni, T. Borsello, *Neurobiol Dis* **2009**, *33*, 518–525.
- [429] J.-Y. Lee, J. E. Friedman, I. Angel, A. Kozak, J.-Y. Koh, *Neurobiol Aging*, *25*, 1315–1321.
- [430] Apogenix GmbH, *National Library of Medicine (US), ClinicalTrials.gov* [Internet] **NLM Identifier: NCT01071837**, <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01071837> - abgerufen am 15.11.2011.
- [431] J.-H. Woo, J.-W. Park, S.-H. Lee, Y.-H. Kim, K. in Lee, E. Gabrielson, S.-H. Lee, H.-J. Lee, Y.-H. Kho, T. K. Kwon, *Cancer Res* **2003**, *63*, 3430–3434.
- [432] Apogenix GmbH, *European Medicines Agency* [Internet] **orphan designation (EU/3/06/411)**, http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Orphan_designation/2009/10/WC500006007.pdf - abgerufen am 16.11.2011.
- [433] S. B. Han, H. J. Lee, Y. H. Kho, Y. J. Jeon, S. H. Lee, H. C. Kim, H. M. Kim, *J Antibiot* **2001**, *54*, 840–843.

- [434] K. Wiegler, C. Bonny, D. Coquoz, L. Hirt, *Cerebrovasc Dis* **2008**, 26, 360–366.
- [435] D-Pharm Ltd., *National Library of Medicine (US), ClinicalTrials.gov* [Internet] **NLM Identifier: NCT00893867**, <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00893867> - abgerufen am 16.11.2011.
- [436] H. Lundbeck A/S, *National Library of Medicine (US), ClinicalTrials.gov* [Internet] **NLM Identifier: NCT00756249**, <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00756249> - abgerufen am 16.11.2011.
- [437] E. Perez, Z. Y. Cai, D. F. Covey, J. W. Simpkins, *Drug Dev. Res.* **2005**, 66, 78–92.
- [438] Trophos, *National Library of Medicine (US), ClinicalTrials.gov* [Internet] **NLM Identifier: NCT01302600**, <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01302600> - abgerufen am 15.11.2011.
- [439] T. Bordet, B. Buisson, M. Michaud, C. Drouot, P. Galéa, P. Delaage, N. P. Akentieva, A. S. Evers, D. F. Covey, M. A. Ostuni et al., *J Pharmacol Exp Ther (The Journal of pharmacology and experimental therapeutics)* **2007**, 322, 709–720.
- [440] Trophos, *National Library of Medicine (US), ClinicalTrials.gov* [Internet] **NLM Identifier: NCT01285583**, <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01285583> - abgerufen am 16.11.2011.
- [441] J. Wang, T. R. van de Water, C. Bonny, F. de Ribaupierre, J. L. Puel, A. Zine, *J Neurosci* **2003**, 23, 8596–8607.
- [442] A. Bombrun, P. Gerber, G. Casi, O. Terradillos, B. Antonsson, S. Halazy, *J Med Chem* **2003**, 46, 4365–4368.
- [443] L. Ghibelli, F. Mengoni, M. Lichtner, S. Coppola, N. De, A. Bergamaschi, C. Mastroianni, V. Vullo, *Biochem Pharmacol* **2003**, 66, 1505–1512.
- [444] S. Anguissola, B. Kohler, R. O'Byrne, H. Dussmann, M. Cannon, F. Murray, C. Concannon, M. Rehm, D. Kogel, J. Prehn, *Mol Pharmacol* **2009**, 76, 998–1010.
- [445] B. Köhler, S. Anguissola, C. G. Concannon, M. Rehm, D. Kögel, J. H. M. Prehn, *PLoS ONE* **2008**, 3, e2844.
- [446] E. Sim, K. Pinter, A. Mushtaq, A. Upton, J. Sandy, S. Bhakta, M. Noble, *Biochem Soc Trans* **2003**, 31, 615–619.
- [447] E. Sim, I. Westwood, E. Fullam, *Expert Opin Drug Metab Toxicol* **2007**, 3, 169–184.
- [448] A. Upton, N. Johnson, J. Sandy, E. Sim, *Trends Pharmacol Sci* **2001**, 22, 140–146.
- [449] H. N. Nigg, I. P. Kapoor, R. L. Metcalf, J. R. Coats, *J Agric Food Chem* **1972**, 20, 446–448.
- [450] P. J. Knerr, A. Tzekou, D. Ricklin, H. Qu, H. Chen, W. A. van der Donk, J. D. Lambris, *ACS Chem Biol* **2011**, 6, 753–760.
- [451] K. Usmani, E. Karoly, E. Hodgson, R. Rose, *Drug Metab Dispos* **2004**, 32, 333–339.
- [452] M. Miura, S. Satoh, H. Tada, T. Habuchi, T. Suzuki, *Eur J Clin Pharmacol* **2006**, 62, 113–117.
- [453] R. T. Borchardt, *Optimizing the "drug-like" properties of leads in drug discovery*, Springer, New York, NY, **2006**.
- [454] D. BERPpohl, Z. You, S. Korsmeyer, M. Moskowitz, M. Whalen, *J Cereb Blood Flow Metab* **2006**, 26, 625–633.
- [455] C. Culmsee, *Persönliche Kommunikation* **2009**.
- [456] I. Degenhardt, *Unveröffentlichte Ergebnisse* **2010**.
- [457] G. Neudert, G. Klebe, *Bioinformatics* **2011**, 27, 1021–1022.
- [458] J. Irwin, B. Shoichet, *J Chem Inf Model* **2005**, 45, 177–182.
- [459] N. Willand, M. Desroses, P. Toto, B. Dirie, Z. Lens, V. Villeret, P. Rucktooa, C. Loch, A. Baulard, B. Deprez, *ACS Chem Biol* **2010**, 5, 1007–1013.
- [460] G. Kryger, I. Silman, J. L. Sussman, *Structure* **1999**, 7, 297–307.
- [461] P. G. Dunbar, G. J. Durant, T. Rho, B. Ojo, J. J. Huzl, D. A. Smith, El-Assadi, Sbeih Sbeih, Dan O. Ngur, Sumudra Periyasamy et al., *J Med Chem* **1994**, 2774–2782.
- [462] M.-J. Gubbels, C. Li, B. Striepen, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2003**, 47, 309–316.
- [463] S. Muench, S. Prigge, L. Zhu, M. Kirisits, C. Roberts, S. Wernimont, R. McLeod, D. Rice, *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun* **2006**, 62, 604–606.
- [464] R. B. Kapust, D. S. Waugh, *Protein Expr Purif* **2000**, 19, 312–318.
- [465] Systat Software Inc., *SigmaPlot 11*.
- [466] Tecan Group Ltd., *Magellan*.

- [467] S. Diemert, A. Dolga, S. Tobaben, J. Grohm, S. Pfeifer, E. Oexler, C. Culmsee, *Journal of Neuroscience Methods* **2012**, 203, 69–77.
- [468] BioSolveIT GmbH, *Colibri: BioSolveIT*. <http://www.biosolveit.de/>.
- [469] W. Mooij, M. Verdonk, *Proteins* **2005**, 61, 272–287.
- [470] G. Neudert, G. Klebe, *J Chem Inf Model* **2011**, 51, 2731–2745.
- [471] W. L. F. Armarego, C. L. L. Chai, *Purification of laboratory chemicals*, Butterworth-Heinemann, Amsterdam ;, Boston, **2003**.
- [472] D. Geffken, *Z Naturforsch B* **1987**, 42, 1202–1206.
- [473] A. Benarab, S. Boyé, L. Savelon, G. Guillaumet, *Tetrahedron Lett* **1993**, 34, 7567–7568.
- [474] J. W. Ellingboe, L. J. Lombardo, T. R. Alessi, T. T. Nguyen, F. Guzzo, C. J. Guinasso, J. Bullington, E. N. C. Browne, J. F. Bagli, *J Med Chem* **1993**, 36, 2485–2493.
- [475] J. L. Barkin, M. D. Faust, W. C. Trenkle, *Org Lett* **2003**, 5, 3333–3335.
- [476] P. E. Morris Jr., A. J. Elliott, S. P. Walton, C. H. Williams, J. A. Montgomery, *ChemInform* **2000**, 31
- [477] Kahane, Levy, *Bull Soc Chem Biol* **1945**, 27, 562–563.
- [478] D.-R. Hou, Y.-D. Hsieh, Y.-W. Hsieh, *Tetrahedron Lett* **2005**, 46, 5927–5929.
- [479] M. E. Pierson, R. A. Lyon, M. Titeler, P. Kowalski, R. A. Glennon, *J Med Chem* **1989**, 32, 859–863.
- [480] C. Bolchi, P. Catalano, L. Fumagalli, M. Gobbi, M. Pallavicini, A. Pedretti, L. Villa, G. Vistoli, E. Valoti, *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 12, 4937–4951.
- [481] G. Y. Paris, C. H. Chambers, *J Med Chem* **1966**, 9, 971.
- [482] R. F. Borch, A. I. Hassid, *J Org Chem.* **1972**, 37, 1673–1674.
- [483] E. Chakrabarti, S. Ghosh, S. Sadhukhan, L. Sayre, G. P. Tochtrop, J. D. Smith, *J Med Chem* **2010**, 53, 5302–5319.
- [484] L. C. Raiford, G. W. Thiessen, I. J. Wernert, *J Am Chem Soc* **1930**, 52, 1205–1209.
- [485] H. Koelling, A. Haberkorn, B. Herbold, *Arzneim.-Forsch. Drug Res.* **1986**, 36, 230–233.
- [486] F. Balavoine, P. Malabre, T. Alleaume, A. Rey, V. Cherfils, O. Jeanneton, S. Seigneurin-Venin, F. Revah, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 3754–3759.
- [487] F. Balavoine, P. Malabre, T. Alleaume, A. Rey, V. Cherfils, O. Jeanneton, S. Seigneurin-Venin, F. Revah, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 3754–3759.
- [488] CIBA, keine Erfinder genannt, DE539178, **1931**.
- [489] K. Matsuno, J. Ushiki, T. Seishi, M. Ichimura, N. A. Giese, J.-C. Yu, S. Takahashi, S. Oda, Y. Nomoto, *J Med Chem* **2003**, 46, 4910–4925.
- [490] A. Ekenstam, *Acta Chem Scand (1947-1973)* **1957**, 11, 1183–1184.
- [491] Stieger, *Monatsh Chem* **1916**, 37, 651.
- [492] Y.-H. Kuo, M.-J. Su, U.S. Patent 20090143397, **2009**.
- [493] A. Chipeleme, J. Gut, P. J. Rosenthal, K. Chibale, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 273–282.
- [494] E. Joseph, U.S. Patent 3732241, **1970**.
- [495] S. Ishida, O. Yamada, M. Ida, *Agr Biol Chem* **1967**, 31, 651–656.
- [496] R. Pascale, A. Carocci, A. Catalano, G. Lentini, A. Spagnoletta, M. M. Cavalluzzi, F. de Santis, A. de Palma, V. Scalera, C. Franchini, *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 5903–5914.
- [497] A. R. Katritzky, S. Rachwal, J. Wu, *Can J Chem* **1990**, 68, 446–455.
- [498] M. B. Winstead, H. W. Heine, *J Am Chem Soc* **1955**, 77, 1913–1914.
- [499] F. F. Stephens, J. D. Bower, *J Chem Soc* **1949**, 2971–2972.
- [500] M. d. C. Cruz, F. Jiménez, F. Delgado, J. Tamariz, *Synlett* **2006**, 749–755.
- [501] G. C. Finger, D. R. Dickerson, L. D. Starr, D. E. Orlopp, *J Med Chem* **1965**, 8, 405–407.
- [502] P. Jütten, W. Schumann, A. Härtl, H.-M. Dahse, U. Gräfe, *J Med Chem* **2007**, 50, 3661–3666.
- [503] S. D. M. Basavarajaiah, B. H. M. Mruthyunjayaswamy, *Chem Pharm Bull* **2009**, 57, 557–560.
- [504] M. Raghavendra, H. S. B. Naik, B. S. Sherigara, *Can J Chem* **2007**, 85, 1041–1044.
- [505] H. G. O. Becker, *Organikum*, Wiley-VCH, Weinheim, **2001**.

E.3. Erklärung

Ich versichere, dass ich meine Dissertation

„Entwicklung strukturell neuartiger Typ II FAS-Inhibitoren als Wirkstoffe gegen multiple Entwicklungsstadien von Apicomplexa und Entwicklung potenzieller Bid-Inhibitoren als Wirkstoffe gegen neuronalen Zelltod“

selbständig, ohne unerlaubte Hilfe angefertigt und mich dabei keiner anderer als der von mir ausdrücklich gekennzeichneten Quellen und Hilfen bedient habe.

Die Dissertation wurde in der jetzigen oder einer ähnlichen Form noch bei keiner anderen Hochschule eingereicht und hat noch keinen sonstigen Prüfungszwecken gedient.

Marburg, den

(Ort/Datum)

(Unterschrift mit Vor- und Zuname)

E.4. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich Prof. Dr. Martin Schlitzer herzlich für den Freiraum danken, den er mir während meiner Arbeit gewährt hat. Seit meiner Zeit als Praktikant in seiner Arbeitsgruppe habe ich ihn als hilfsbereit und unkompliziert erlebt.

Prof. Dr. Carsten Culmsee danke ich für die Gelegenheit, ein zweites interessantes Thema zu bearbeiten. Wie auch Prof. Dr. Petersen und Prof. Dr. Klebe danke ich ihm außerdem für die Teilnahme an der Prüfungskommission an einem außerplanmäßigen Termin. Renate Hartmannsgruber, Sina Oppermann und Katharina Elsässer aus der Arbeitsgruppe Culmsee danke ich für die zahlreichen Daten aus MTT-Assays.

Insbesondere möchte ich Serghei Glinca aus der Arbeitsgruppe Klebe danken für die Zusammenarbeit, die zahlreichen Abbildungen und für das Korrekturlesen meiner schriftlichen Arbeit. Darüber hinaus behalte ich ihn als guten Freund in Erinnerung.

Dr. Swetlana Heinrich und Dr. Regina Ortmann danke ich für das Korrekturlesen meiner schriftlichen Arbeit. Dr. Regina Ortmann danke ich außerdem für die zahlreichen und hilfreichen Gespräche zu NMR-Spektren, Synthese und chemischer Nomenklatur.

Dr. Swetlana Heinrich und Dr. Andrea Mädél danke ich sowohl für ihren kompetenten fachlichen Rat als auch für die schöne Zeit abseits des Labors. Dr. Andrea Mädél danke ich besonders für die Einarbeitung während der ersten Zeit meiner Promotion.

Kerstin Krose danke ich für die Unterstützung in organisatorischen Angelegenheiten. Die technische Unterstützung durch Reiner Müller während meiner gesamten Arbeitszeit war unbezahlbar, wofür ich ihm herzlich danke.

Allen Wahlpflichtpraktikanten, die ich während meiner Promotionszeit betreuen durfte, danke ich herzlich für ihre Unterstützung und wünsche ihnen für die Zukunft viel Erfolg.

Stellvertretend möchte ich Jürgen Jung, Dr. Thomas Kämpchen, Stefan Newel und Nina Zitzer für die exzellente Arbeit der Serviceabteilungen des Fachbereichs danken.

Dr. Stefan Baumeister danke ich für die Bestimmung der Aktivität gegen intraerythrozytäre *P. falciparum*. Dr. Hans-Martin Dahse danke ich für die Bestimmung der Zytotoxizität.

Prof. Dr. Lanzer danke ich für die willkommene Gelegenheit, in seinem Labor die von mir synthetisierten Verbindungen biologisch zu testen. In diesem Sinne möchte ich auch Stefan Prior und Marina Müller stellvertretend für die gesamte Arbeitsgruppe Lanzer ganz herzlich danken für die geduldigen Erklärungen und Blicke durch das Mikroskop, trotz offensichtlich ausreichend eigener Aufgaben. Miriam Griesheimer danke ich herzlich für die umfassende organisatorische Hilfe in Heidelberg.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Dr. Ann-Kristin Müller sowie bei Dr. Julia Sattler für die angenehme Kooperation.

Prof. Dr. Rima McLeod und Prof. Dr. Sean Prigge danke ich für die gute Kommunikation und erfolgreiche Zusammenarbeit.

Meinen Eltern danke ich für ihre umfangreiche Unterstützung in jeder Form und dem Interesse an meiner Arbeit.

E.5. Lebenslauf

